

Міністерство освіти і науки України
Національний університет водного господарства та
природокористування

Навчально-науковий інститут будівництва та архітектури
Кафедра водопостачання, водовідведення та бурової справи

03-06-174М

МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ

до практичних занять та самостійної роботи
з навчальної дисципліни «Біоінженерія» для здобувачів вищої
освіти першого (бакалаврського) рівня за освітньо-професійною
програмою «Біотехнології, біоробототехніка та біоенергетика»
спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія»
денної форми навчання

Рекомендовано
науково-методичною радою
з якості ННІБА
Протокол № 5 від 11.02.2025 р.

Рівне – 2025

Методичні вказівки до практичних занять та самостійної роботи з навчальної дисципліни «Біоінженерія» для здобувачів вищої освіти першого (бакалаврського) рівня за освітньо-професійною програмою «Біотехнології, біоробототехніка та біоенергетика» спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія» денної форми навчання [Електронне видання] / Грицина О. О. – Рівне : НУВГП, 2025. – 69 с.

Укладач: Грицина О. О., к.т.н., доцент кафедри водопостачання, водовідведення та бурової справи.

Відповідальний за випуск: Мартинов С. Ю., д.т.н., професор, завідувач кафедри водопостачання, водовідведення та бурової справи.

Керівник групи забезпечення спеціальності

162 «Біотехнології та біоінженерія»

Грицина О. О.

© О. О. Грицина, 2025

© НУВГП, 2025

З М І С Т

ВСТУП	4
Практичне заняття №1. Генна інженерія та молекулярне клонування.	7
Практичне заняття №2. Механізми регуляції генів.....	12
Практичне заняття №3. Полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР) та її застосування.	18
Практичне заняття №4. Технологія редагування геному за допомогою CRISPR-Cas9.....	24
Практичне заняття №5. Екстракція та аналіз РНК.	29
Практичне заняття №6. Генетичний трансфер та горизонтальне перенесення генів у бактеріях.	34
Практичне заняття №7. Клітинні культури та основи тканинної інженерії.	38
Практичне заняття №8. Біобезпека та біоетика в біоінженерії. ..	43
Практичне заняття №9. Біоінформатика та аналіз геномних даних.	48
Практичне заняття №10. Кінетика ферментативних реакцій та біокаталіз.	53
Практичне заняття №11. Інженерія білків та їх експресія.....	58
Практичне заняття №12. Ферментаційні процеси та біореактор.63	
Рекомендована література	69

ВСТУП

Методичні вказівки до практичних занять та самостійної роботи з навчальної дисципліни «Біоінженерія» розроблені для здобувачів вищої освіти першого (бакалаврського) рівня за освітньо-професійною програмою «Біотехнології, біоробототехніка та біоенергетика» спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія» денної форми навчання.

Біоінженерія є однією з найдинамічніших та найперспективніших галузей сучасної науки і техніки. Вона поєднує біологічні науки з інженерними підходами, спрямованими на вирішення складних проблем у біотехнології, медицині, сільському господарстві та енергетиці. Ця дисципліна надає студентам фундаментальні знання та практичні навички, які є ключовими для сучасних напрямків біотехнологій, біоробототехніки та біоенергетики.

Метою навчальної дисципліни є:

- Формування здатності розв'язувати складні спеціалізовані задачі та практичні проблеми в біотехнології та біоінженерії, що характеризуються комплексністю та невизначеністю.
- Забезпечення практичного застосування знань, отриманих у процесі навчання, з акцентом на інноваційні підходи та сучасні методи.
- Розвиток навичок самостійного навчання та оволодіння новими знаннями, необхідними для професійного зростання.

Завдання дисципліни включають:

1. Застосування теорії на практиці (K01): навчити студентів використовувати отримані знання у реальних практичних ситуаціях, вирішуючи актуальні проблеми біоінженерії.
2. Підвищення самостійності в навчанні (K05): розвинути вміння вчитися самостійно, постійно оновлювати свої знання та адаптуватися до швидких змін у галузі.
3. Інтеграція математичних і фізичних знань (K10): застосовувати математичні та фізичні концепції в обсязі, необхідному для досягнення професійних результатів та інновацій у біоінженерії.
4. Експериментальні дослідження біологічних агентів (K14): ознайомити з методами викликання змін у структурі спадкового апарату та функціональній активності

біологічних агентів, включаючи індукований мутагенез.

5. Використання сучасного обладнання та методів (K18): навчити обирати і використовувати відповідне обладнання, інструменти та методи для реалізації та контролю виробництва біотехнологічних продуктів різного призначення.

Очікувані програмні результати навчання:

- ПР11: студенти здобудуть вміння здійснювати базові генетичні та цитологічні дослідження для вдосконалення і підвищення біосинтетичної здатності біологічних агентів з урахуванням принципів біобезпеки, біозахисту та біоетики.

Особливості практичних занять:

- Орієнтація на активне застосування знань, отриманих на лекціях, у контексті реальних проблем та сценаріїв.
- Розвиток критичного мислення та творчого підходу до вирішення задач.
- Використання сучасного обладнання та технологій, що дозволить студентам ознайомитися з практичними аспектами професії.
- Обговорення та аналіз кейсів, що стимулює співпрацю та обмін ідеями між студентами.

Актуальність дисципліни обумовлена тим, що біоінженерія сприяє розвитку інноваційних технологій та підходів до вирішення актуальних проблем людства, таких як розробка нових лікарських препаратів, створення відновлюваних джерел енергії, покращення якості життя та охорона навколишнього середовища.

Компетентності, які будуть сформовані в процесі навчання:

- ІК: здатність розв'язувати складні спеціалізовані задачі та практичні проблеми, що характеризуються комплексністю та невизначеністю у біотехнології та біоінженерії.
- K01: здатність застосовувати знання у практичних ситуаціях.
- K05: здатність вчитися і оволодівати сучасними знаннями.
- K10: здатність використовувати знання з математики та фізики в обсязі, необхідному для досягнення інших результатів освітньої програми.
- K14: здатність здійснювати експериментальні дослідження з вдосконалення біологічних агентів, включаючи викликання змін у структурі спадкового апарату та функціональній

активності.

- K18: здатність обирати і використовувати відповідне обладнання, інструменти та методи для реалізації та контролю виробництв біотехнологічних продуктів різного призначення.

Теми практичних занять включають:

1. Генна інженерія та молекулярне клонування (2 години)
2. Механізми регуляції генів (2 години)
3. Полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР) та її застосування (4 години)
4. Технологія редагування геному за допомогою CRISPR-Cas9 (2 години)
5. Екстракція та аналіз РНК (2 години)
6. Генетичний трансфер та горизонтальна передача генів у бактеріях (2 години)
7. Клітинні культури та основи тканинної інженерії (4 години)
8. Біобезпека та біоетика в біоінженерії (4 години)
9. Біоінформатика та аналіз геномних даних (2 години)
10. Кінетика ферментативних реакцій та біокаталіз (4 години)
11. Інженерія білків та їх експресія (4 години)
12. Ферментаційні процеси та біореактор (2 години)

Загальний обсяг освітньої компоненти становить 36 годин практичних занять і 108 годин самостійної роботи.

Сподіваємося, що цей курс стане фундаментом для вашого подальшого професійного розвитку, відкриє нові горизонти знань та надихне на досягнення вагомих результатів у галузі біоінженерії.

Практичне заняття №1. Генна інженерія та молекулярне клонування.

Мета заняття. Розуміти методи молекулярного клонування: виділення та підготовка ДНК, лігування, трансформація, розведення планшетів. Розуміти пошкодження ДНК та систему репарації ДНК.

Теоретичні відомості. Молекулярне клонування є однією з ключових технік, що заклали основи сучасної біотехнології. У 1980-х роках ця методика вперше дозволила вставити людський ген інсуліну в дріжджі та бактерії *E. coli*, що зробило можливим виробництво інсуліну мікроорганізмами для лікування діабету. Відтоді молекулярне клонування та генна інженерія стали фундаментальними методами у фармацевтиці, виробництві біоетанолу, медицині та фундаментальних наукових дослідженнях.

Молекулярне клонування передбачає створення молекул ДНК у векторах та введення їх в організми-господарі, зазвичай бактерії або дріжджі. Воно відіграє центральну роль у біології та медицині. Процес зазвичай включає отримання гена інтересу, клонування його у вектор, трансформацію клітин-господарів векторною конструкцією, відбір трансформованих клітин за допомогою антибіотиків та ізоляцію клонів з ідентичною генетичною вставкою. Підтвердити створення плазміди можна за допомогою секвенування ДНК, яке гарантує, що вставки успішно інтегровані в плазмідний вектор з правильною орієнтацією і рамкою зчитування.

Полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР) – це метод, який використовується для ампліфікації специфічних послідовностей ДНК, створюючи мільярди копій.

Гель-електрофорез – це метод, який використовується для розділення та аналізу заряджених макромолекул, таких як ДНК, РНК або білки, на основі їх розміру.

Рестриктази використовуються для розщеплення дволанцюгової ДНК у специфічних ділянках розпізнавання.

Лігаза – це фермент, який ковалентно з'єднує цукро-фосфатні остови ланцюгів ДНК, відновлюючи фосфодіестерні зв'язки.

Пошкодження ДНК може статися через різні фактори, що призводять до молекулярних змін, які можуть змінити генетичну інформацію, таких як дезамінування, депуринування, депримідинування, окислювальне пошкодження, алкілування, а

також одноланцюгові або дволанцюгові розриви. Дволанцюгові розриви є найбільш небезпечними, оскільки вони можуть призвести до втрати генетичного матеріалу.

У цьому практичному занятті ви навчитеся збирати експресійний вектор, що містить гени RAD52 та GFP. Метою є контроль рівня експресії гена RAD52 за допомогою доксицикліну та моніторинг експресії шляхом спостереження за сигналом GFP.

Режим доступу до теоретичної частини : [Теорія "Генна інженерія та молекулярне клонування"](#).

Цілі навчання. Після завершення цієї роботи ви зможете:

- ✓ Розуміти методи молекулярного клонування, включаючи виділення та підготовку ДНК, лігування, трансформацію.
- ✓ Розуміти пошкодження ДНК та системи репарації ДНК, що забезпечують підтримку генетичної стабільності.

Хід виконання. Перед початком роботи переконайтеся, що Вас додано до списку груп виконавців лабораторної роботи. Відповідно до розкладу переконайтесь в місці та даті проведення роботи. Дотримуйтесь термінів встановлених до виконання цієї роботи. Під час виконання роботи передбачається тестування на платформі.

Дотримуйтесь наступного алгоритму роботи:

1. Збірка вектора.

1.1. Екстракція ДНК з клітин дріжджів.

- Підготовка зразків: Відіберіть клітини дріжджів для виділення ДНК.
- Екстракція ДНК: Використовуючи стандартний протокол, виділіть геному ДНК з клітин дріжджів.
- Вимірювання концентрації: Визначте концентрацію екстрагованої ДНК за допомогою спектрофотометра.

1.2. Ізоляція генів RAD52 та GFP.

- Рестрикція ДНК: Використайте рестрикційні ферменти для вирізання гена RAD52 з ДНК дріжджів та гена GFP з наявного вектора.
- Підготовка фрагментів: Очистьте отримані фрагменти ДНК шляхом гель-електрофорезу та вилучення ДНК з гелю.

1.3. Лігування генів у вектор.

- Підготовка вектора: Розкрийте плазмідний вектор за допомогою тих самих рестриктаз.
- Лігування: Змішайте вектор та фрагменти генів RAD52 і GFP

- з лігазою, додаючи відповідний буфер.
- Інкубація: Інкубуйте реакційну суміш при оптимальній температурі для лігази.
2. Трансформація клітин дріжджів
- 2.1. Підготовка компетентних клітин
- Підготовка клітин: Отримайте компетентні клітини дріжджів, здатні приймати плазміди.
- 2.2. Електропорація
- Трансформація: Введіть зібраний вектор у клітини дріжджів методом електропорації.
 - Відновлення клітин: Додайте відновлювальне середовище та інкубуйте клітини для відновлення після електропорації.
- 2.3. Відбір трансформантів
- Засів на чашки Петрі: Розподіліть клітини на чашках Петрі з поживним середовищем, що містить відповідний антибіотик.
 - Інкубація: Інкубуйте чашки при оптимальній температурі для росту дріжджів.
 - Відбір колоній: Виберіть колонії, що виростили на середовищі з антибіотиком, як потенційні трансформанти.
3. Регуляція експресії гена RAD52 та використання GFP
- 3.1. Індукована регуляція експресії
- Додавання доксицикліну: Додайте до середовища доксициклін для пригнічення експресії гена RAD52.
 - Контрольні зразки: Підготуйте зразки без доксицикліну для порівняння.
- 3.2. Використання GFP як репортерного гена
- Моніторинг експресії: Спостерігайте за флуоресценцією GFP під блакитним світлом.
 - Активний RAD52: Клітини, що експресують RAD52, будуть світитися завдяки експресії GFP.
 - Пригнічений RAD52: Клітини з пригніченою експресією RAD52 не будуть світитися.
4. Дослідження пошкодження ДНК та системи репарації
- 4.1. Пошкодження ДНК УФ-опроміненням
- Експозиція клітин: Піддайте клітини УФ-опроміненню для індукції пошкоджень ДНК.
 - Контрольні умови: Використовуйте клітини з активним та пригніченим RAD52.

4.2. Аналіз виживаності клітин

- Інкубація після опромінення: Дайте клітинам відновитися після УФ-опромінення.
- Оцінка результатів:
 - Клітини з активним RAD52: Очікується вища виживаність завдяки ефективній репарації ДНК.
 - Клітини з пригніченим RAD52: Очікується низька виживаність через недостатню репарацію ДНК.

4.3. Висновки

- Аналіз даних: Порівняйте результати та зробіть висновки щодо важливості RAD52 у процесах репарації ДНК.

Режим доступу до виконання роботи на платформі : [Хід роботи "Генна інженерія та молекулярне клонування"](#).

Обговорення та висновки.

Завдання для обговорення:

1. Роль молекулярного клонування в біотехнології:
 - Обговоріть значення молекулярного клонування як фундаментальної техніки в сучасній біотехнології, включаючи його застосування в медицині та промисловості.
 - Наведіть приклади, як молекулярне клонування сприяло розвитку фармацевтичної галузі та біоетанольного виробництва.
2. Використання генів RAD52 та GFP в експерименті:
 - Поясніть, як гени RAD52 та GFP взаємодіють у цьому експерименті.
 - Чому GFP використовується як репортерний ген, і які переваги це дає для моніторингу експресії RAD52?
3. Пошкодження ДНК та важливість RAD52:
 - Розгляньте різні типи пошкоджень ДНК та їх потенційні наслідки для клітини.
 - Обговоріть роль RAD52 у системі репарації ДНК та як відсутність його експресії впливає на виживаність клітин після УФ-опромінення.

Завдання для висновків:

1. Аналіз результатів заняття:
 - Оцініть успішність кожного етапу заняття: екстракція ДНК, збірка вектора, трансформація та відбір

трансформантів.

- На основі спостережень за флуоресценцією GFP та виживаністю клітин після УФ-опромінення зробіть висновки про ефективність експресії RAD52.
2. Висновки щодо ролі RAD52 у репарації ДНК:
- Підсумуйте, як результати експерименту підтверджують або спростовують гіпотезу про важливість RAD52 у процесах репарації ДНК.
 - Обговоріть можливі біологічні та медичні наслідки недостатньої експресії RAD52.
3. Практичне значення та перспективи:
- Розгляньте, як отримані знання та навички можуть бути застосовані в інших дослідженнях або біотехнологічних проектах.
 - Обговоріть перспективи використання індукованої регуляції генів та репортерних генів у сучасній науці та медицині.

Оцінювання та зворотний зв'язок.

Методи оцінювання:

✓ Під час виконання роботи передбачається тестування на платформі або в аудиторії, практичні запитання від викладача.

✓ Зазначте, як ці методи допомогли вам засвоїти матеріал та які аспекти були найбільш корисними.

Отриманий зворотний зв'язок:

✓ Опишіть, як зворотний зв'язок сприяв покращенню вашого розуміння теми та навичок роботи в лабораторії.

Самоаналіз:

✓ Проаналізуйте власну роботу та підхід до виконання завдань. Визначте, що було зроблено добре, а над чим варто працювати.

✓ Встановіть цілі для подальшого покращення своїх знань та навичок у цій галузі.

Рекомендації для майбутніх робіт:

✓ Поділіться своїми пропозиціями щодо покращення практичного заняття. Це можуть бути ідеї щодо обладнання, методів або додаткових ресурсів.

✓ Зазначте, як отриманий досвід може бути застосований у майбутніх дослідженнях або професійній діяльності.

Оформлення звіту про виконання практичного заняття. Звіт виконується відповідно до форми та завантажується на перевірку у навчальну платформу університету [Навчальна дисципліна «Біоінженерія»](#).

Практичне заняття №2. Механізми регуляції генів.

Мета заняття. Оволодіти механізмами регуляції генів. Навчитися описувати різні рівні регуляції генів (мРНК та білок).

Теоретичні відомості. Регуляція генів важлива для контролю експресії генів у відповідь на зміни середовища. Рання регуляція, така як блокування транскрипції, економить більше енергії. У прокаріотів генна експресія регулюється за допомогою оперонів - кластерів генів з одним промотором.

У еукаріотів регуляція генів дозволяє створювати різні типи клітин з одним геномом і відбувається на різних етапах:

1. До транскрипції - модифікації хроматину, що впливають на доступність ДНК.
2. Під час транскрипції - контроль транскрипційних факторів.
3. Після транскрипції - обробка РНК, деградація мРНК.
4. Під час трансляції - регуляція процесу синтезу білків.
5. Після трансляції - модифікації та деградація білків.

Лентивіруси - рід ретровірусів (наприклад, ВІЛ), які мають одноланцюговий РНК-геном. Вони здатні до зворотної транскрипції та стабільної інтеграції в геном господаря.

Основні гени лентивірусу:

- LTR: довгі кінцеві повтори, регуляторні послідовності.
- gag: структурні білки капсиду.
- pol: ферменти зворотної транскриптази та інтегрази.
- env: поверхневі глікопротеїни оболонки.
- tat, rev: регуляторні білки, що контролюють експресію генів.

Лентивіруси використовуються як вектори доставки генів завдяки можливості стабільної інтеграції та експресії в клітинах господаря.

Зворотна транскрипція ПЛР (RT-PCR) - метод вимірювання рівня генової експресії шляхом визначення кількості мРНК.

Етапи RT-PCR:

1. Синтез кДНК:
 - мРНК конвертується в комплементарну ДНК (кДНК)

за допомогою зворотної транскриптази.

- Праймери (наприклад, оліго(dT)) зв'язуються з полі(A)-хвостом мРНК для ініціації синтезу кДНК.

2. Ампліфікація кДНК:

- Отримана кДНК ампліфікується методом ПЛР з використанням ген-специфічних праймерів.

Примітка: мРНК нестабільна і не може бути напряму ампліфікована, тому її перетворюють на кДНК.

Вестерн-блот - метод для виявлення та кількісного визначення специфічних білків у зразку.

Основні етапи:

1. Підготовка зразків:
 - Лізис клітин та виділення білків.
2. Електрофорез (SDS-PAGE):
 - Розділення білків за розміром у поліакриламідному гелі з додецилсульфатом натрію (SDS).
3. Перенесення на мембрану:
 - Білки переносяться з гелю на мембрану (наприклад, нітроцелюлозну чи PVDF).
4. Детекція:
 - Обробка мембрани первинними антитілами до цільового білка.
 - Застосування вторинних антитіл з міткою для виявлення первинних антитіл.
5. Візуалізація:
 - Виявлення сигналу (хемілюмінесценція, флуоресценція або колориметрія) та аналіз результатів.

Застосування: дозволяє визначити наявність, кількість та молекулярну масу специфічного білка в зразку.

Режим доступу до теоретичної частини : [Теорія "Механізми регуляції генів"](#).

Цілі навчання:

- ✓ Ознайомитися з основами стовбурових клітин, зокрема індукованих плюрипотентних стовбурових клітин (іПСК).
- ✓ Навчитися перетворювати фібробласти в іПСК за допомогою ретровірусної інфекції з використанням факторів транскрипції.

✓ Визначити, які транскрипційні фактори є необхідними для підтримки характеристик стовбурових клітин.

✓ Провести аналіз експресії генів на рівні мРНК та білків за допомогою RT-ПЛР та вестерн-блоту.

✓ Прийняти обгрунтоване рішення щодо ефективного набору транскрипційних факторів для трансформації фібробластів в іПСК.

Хід виконання. Перед початком роботи переконайтеся, що Вас додано до списку груп виконавців лабораторної роботи. Відповідно до розкладу переконайтеся в місці та даті проведення роботи. Дотримуйтеся термінів встановлених до виконання цієї роботи. Під час виконання роботи передбачається тестування на платформі.

Дотримуйтеся наступного алгоритму роботи:

1. Вивчення основ стовбурових клітин.

• 1.1. Ознайомлення з поняттям стовбурових клітин:

- Вивчіть основи стовбурових клітин: їхні характеристики, типи (ембріональні, дорослі, індуковані плюрипотентні стовбурові клітини).
- Зрозумійте, що таке плюрипотентність та як вона відрізняється від мультипотентності та тотипотентності.

• 1.2. Механізми регуляції генів:

- Розгляньте роль транскрипційних факторів у підтримці стовбурових клітин.
- Вивчіть відкриття Гердона та Яманаки щодо перепрограмування соматичних клітин у стовбурові клітини за допомогою експресії певних транскрипційних факторів.

2. Трансформація фібробластів у іПСК

• 2.1. Визначення ключових транскрипційних факторів:

- На основі знань визначте транскрипційні фактори, необхідні для підтримки стовбурових клітин (наприклад, Oct4, Sox2, Klf4, c-Myc).

• 2.2. Підготовка ретровірусних векторів:

- Підготуйте ретровірусні вектори, що містять гени обраних транскрипційних факторів.

• 2.3. Інфекція фібробластів:

- Отримайте зразки фібробластів.
- Проведіть ретровірусну інфекцію фібробластів,

вводячи гени транскрипційних факторів.

- 2.4. Інкубація та спостереження:
 - Інкубуйте клітини протягом визначеного часу.
 - Спостерігайте за змінами морфології клітин, що можуть свідчити про перетворення в іПСК.
- 3. Аналіз експресії генів
 - 3.1. Аналіз мРНК за допомогою РТ-ПЛР:
 - Виділіть мРНК з трансформованих клітин та контрольних фібробластів.
 - Проведіть синтез кДНК за допомогою зворотної транскриптази.
 - Виконайте ПЛР з ген-специфічними праймерами для маркерів стовбурових клітин (наприклад, Nanog, Oct4).
 - Проаналізуйте отримані продукти ПЛР методом гелево-електрофорезу.
 - 3.2. Аналіз білків за допомогою вестерн-блоту:
 - Виділіть білки з клітинних зразків.
 - Проведіть електрофорез в поліакриламідному гелі з додецилсульфатом натрію (SDS-PAGE) для розділення білків.
 - Перенесіть білки на мембрану (нітроцелюлозну або PVDF).
 - Інкубуйте мембрану з первинними антитілами до маркерів стовбурових клітин.
 - Використайте вторинні антитіла з міткою для детектування.
 - Візуалізуйте білки та проаналізуйте результати.
- 4. Інтерпретація результатів та прийняття рішення
 - 4.1. Оцінка ефективності трансформації:
 - Порівняйте рівні експресії генів та білків у трансформованих клітинах та контрольних фібробластах.
 - Визначте, які транскрипційні фактори є ефективними для індукції іПСК.
 - 4.2. Прийняття рішення:
 - На основі отриманих даних вирішіть, який набір транскрипційних факторів найбільш ефективно

трансформує фібробласти в іПСК.

- Обґрунтуйте свій вибір, враховуючи результати експериментів та літературні дані.

Режим доступу до виконання роботи на платформі : [Хід роботи "Механізми регуляції генів"](#).

Обговорення та висновки.

Завдання для обговорення:

1. Регуляція генів та її значення:
 - Поясніть, як регуляція генів дозволяє еукаріотичним організмам створювати різні типи клітин з одним геномом.
 - Обговоріть різні рівні регуляції генів у еукаріотичних клітинах: до транскрипції, під час транскрипції, після транскрипції, під час та після трансляції.
 - Яким чином рання регуляція генів (блокування транскрипції) є більш енергоефективною порівняно з регуляцією на пізніших етапах?
2. Використання ретровірусних векторів у перепрограмуванні клітин:
 - Обговоріть особливості ретровірусів, зокрема лентивірусів, які роблять їх бажаними векторами для доставки генів у клітини.
 - Які фактори потрібно враховувати при використанні ретровірусних векторів з точки зору безпеки та ефективності?
 - Які переваги та недоліки використання ретровірусних векторів у генній терапії?
3. Методи аналізу експресії генів та білків:
 - Порівняйте RT-ПЛР та вестерн-блот як методи для вимірювання рівнів мРНК та білків відповідно.
 - Які переваги та обмеження кожного з цих методів?
 - Чому важливо аналізувати експресію генів на рівні як мРНК, так і білка?

Завдання для висновків:

1. Аналіз ефективності перетворення фібробластів у іПСК:
 - На основі результатів RT-ПЛР та вестерн-блоту визначте, які транскрипційні фактори найбільш ефективно індукують перетворення фібробластів у

- індуковані плюрипотентні стовбурові клітини.
- Обґрунтуйте свій вибір, спираючись на отримані дані та порівнюючи їх з контрольними зразками.
2. Практичне значення індукованих плюрипотентних стовбурових клітин:
- Поясніть, як отримання іПСК від фібробластів пацієнта може бути використане для лікування захворювань, раніше вважаних невиліковними.
 - Розгляньте потенційні застосування іПСК у регенеративній медицині, особливо в контексті відновлення зору у пацієнтів з вадами сітківки.
3. Етичні та безпекові аспекти використання стовбурових клітин та генетичної інженерії:
- Обговоріть етичні питання, пов'язані з перепрограмуванням соматичних клітин у стовбурові та їх використанням у терапевтичних цілях.
 - Які заходи біобезпеки необхідно вживати при роботі з ретровірусними векторами та генетично модифікованими клітинами?
 - Як забезпечити баланс між науковим прогресом та етичними стандартами в біомедичних дослідженнях?
4. Власна оцінка виконаної роботи:
- Проаналізуйте, які навички та знання ви здобули під час виконання цього практичного заняття.
 - Розгляньте, з якими труднощами ви стикнулися та як їх подолали.
 - Оцініть, як отриманий досвід може вплинути на ваше майбутнє навчання та кар'єру в галузі біотехнології та біоінженерії.

Оцінювання та зворотний зв'язок.

Методи оцінювання:

- ✓ Під час виконання роботи передбачається тестування на платформі або в аудиторії, практичні запитання від викладача.
- ✓ Зазначте, як ці методи допомогли вам засвоїти матеріал та які аспекти були найбільш корисними.

Отриманий зворотний зв'язок:

- ✓ Опишіть, як зворотний зв'язок сприяв покращенню вашого розуміння теми та навичок роботи в лабораторії.

Самоаналіз:

✓ Проаналізуйте власну роботу та підхід до виконання завдань. Визначте, що було зроблено добре, а над чим варто працювати.

✓ Встановіть цілі для подальшого покращення своїх знань та навичок у цій галузі.

Рекомендації для майбутніх робіт:

✓ Поділіться своїми пропозиціями щодо покращення практичного заняття. Це можуть бути ідеї щодо обладнання, методів або додаткових ресурсів.

✓ Зазначте, як отриманий досвід може бути застосований у майбутніх дослідженнях або професійній діяльності.

Оформлення звіту про виконання практичного заняття. Звіт виконується відповідно до форми та завантажується на перевірку у навчальну платформу університету [Навчальна дисципліна «Біоінженерія»](#).

Практичне заняття №3. Полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР) та її застосування.

Мета заняття. Ознайомитися з методами збору зразків ДНК та їх підготовкою до аналізу. Зрозуміти принципи ідентифікації особи за допомогою ДНК.

Теоретичні відомості. ДНК (Дезоксирибонуклеїнова кислота) є спадковим матеріалом усіх живих організмів. Це подвійна спіраль, що складається з двох комплементарних ланцюгів. Інформація в ДНК містить інструкції для побудови та підтримки всіх клітин організму.

ДНК-профілювання або ДНК-дактилоскопія - це метод аналізу відмінностей між індивідами на рівні ДНК. Як і відбитки пальців, ДНК-профіль кожної людини унікальний. Велика частина нашої ДНК є однаковою, але деякі ділянки, звані короткими тандемними повторами (STR), мають різну кількість повторів у різних людей. Це відбувається через мутації, накопичені протягом поколінь. Унікальна комбінація цих варіабельних ділянок складає ДНК-профіль особи. Для його визначення аналізують саме ці специфічні ділянки.

Полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР) - це метод, який дозволяє отримати мільярди копій специфічних ділянок ДНК, тобто

ампліфікувати зразок ДНК. Це необхідно, коли для подальшого аналізу потрібна більша кількість ДНК, наприклад, у ДНК-дактилоскопії чи генотипуванні.

ПЛР є високоспецифічним методом: вона продукує копії лише цільової послідовності. Специфічність забезпечується праймерами - короткими фрагментами ДНК, які комплементарно зв'язуються з ділянками по обидва боки від цільової послідовності.

Гель-електрофорез - метод розділення заряджених макромолекул (ДНК, РНК, білків) за розміром у гелі під дією електричного поля. Нуклеїнові кислоти мають негативний заряд, тому при електрофорезі вони рухаються до анода (позитивного електроду). Менші молекули рухаються швидше, що дозволяє розділити фрагменти ДНК різної довжини та оцінити їх розмір.

Праймери - короткі одноланцюгові фрагменти ДНК (зазвичай 18-25 нуклеотидів), які використовуються для ініціації синтезу ДНК полімеразою. Вони зв'язуються з комплементарними ділянками матричної ДНК і позначають початок синтезу нового ланцюга.

ДНК-полімерази - ферменти, що відповідають за синтез ДНК. Вони додають нуклеотиди до 3'-кінця праймера, синтезуючи нову нитку ДНК комплементарно до матричного ланцюга.

Нуклеотиди — основні будівельні блоки ДНК і РНК. Кожен нуклеотид складається з цукру (дезоксирибози в ДНК), фосфатної групи та азотистої основи. В ДНК є чотири види азотистих основ: Аденін (А), Тимін (Т), Цитозин (Ц), Гуанін (Г).

Послідовність нуклеотидів кодує генетичну інформацію. Звичайні ДНК-полімерази не витримують високих температур, необхідних для ПЛР. Термофільна ДНК-полімераза (Таq-полімераза) - термостабільна ДНК-полімераза, виділена з бактерії *Thermus aquaticus*, яка живе в гарячих джерелах. Вона залишається активною при температурах до 95°C, що дозволяє проводити багато циклів ПЛР без додавання нових ферментів після кожного циклу.

ДНК-маркер - це набір ДНК-фрагментів відомої довжини, який використовують у гель-електрофорезі як стандарт для визначення розмірів інших фрагментів ДНК. Порівнюючи міграцію зразків із маркером, можна оцінити довжину невідомих фрагментів.

Режим доступу до теоретичної частини : [Теорія "Полімеразна ланцюгова реакція \(ПЛР\) та її застосування"](#).

Цілі навчання:

✓ Ознайомитися з методами збору зразків ДНК та їх підготовкою до аналізу.

✓ Навчитися проводити полімеразну ланцюгову реакцію для ампліфікації ДНК.

✓ Засвоїти методики гель-електрофорезу для аналізу ПЛР-продуктів.

✓ Зрозуміти принципи ідентифікації особи за допомогою ДНК-профілювання.

Хід виконання. Перед початком роботи переконайтеся, що Вас додано до списку груп виконавців лабораторної роботи. Відповідно до розкладу переконайтеся в місці та даті проведення роботи. Дотримуйтеся термінів встановлених до виконання цієї роботи. Під час виконання роботи передбачається тестування на платформі.

Дотримуйтеся наступного алгоритму роботи:

1. Збір зразків ДНК.

• 1.1. Ознайомлення з моделлю ситуації:

- Уявіть себе на місці події, де необхідно зібрати зразки для аналізу ДНК.

• 1.2. Збір зразків:

- Використовуючи асептичні методи, зберіть зразки, які можуть містити ДНК (наприклад, сліди крові).
- Запишіть місця збору та умови зберігання зразків.

2. Підготовка лабораторного аналізу.

• 2.1. Виділення та очищення ДНК:

- Проведіть екстракцію ДНК зі зібраних зразків за допомогою спеціалізованих наборів або протоколів.
- Переконайтеся в чистоті та якості отриманої ДНК.

• 2.2. Підготовка до ПЛР:

- Підготуйте необхідні реактиви: буфери, дезоксинуклеозидтрифосфати (dNTPs), праймери, Taq-полімераза.
- Встановіть концентрацію ДНК у зразках.

3. Постановка полімеразної ланцюгової реакції.

• 3.1. Складання реакційної суміші:

- Визначте об'єм кожного компонента для реакції ПЛР.
- У пробірки додайте:
 - Буфер для ПЛР.
 - dNTPs.

- Праймери, специфічні для цільових ділянок ДНК.
 - Таq-полімераза.
 - Зразок ДНК.
 - 3.2. Проведення ПЛР:
 - Розмістіть пробірки в термоциклері.
 - Запрограмуйте цикли ПЛР:
 - Денатурація при 94-95°C (30 секунд).
 - Аннелювання праймерів при оптимальній для них температурі (50-65°C, 30 секунд).
 - Елонгація при 72°C (1 хвилина).
 - Повторіть цикл 30-35 разів.
4. Аналіз результатів за допомогою гель-електрофорезу.
- 4.1. Підготовка гелю:
 - Приготуйте агарозний гель необхідної концентрації (зазвичай 1-2%).
 - Додайте етановий бромід або інший фарбник для візуалізації ДНК.
 - 4.2. Завантаження зразків:
 - Додайте до ПЛР-продуктів буфер завантаження.
 - Завантажте зразки в лунки гелю разом із ДНК-ладером (маркером розмірів).
 - 4.3. Проведення електрофорезу:
 - Застосуйте електричну напругу (100-120 В) і проведіть електрофорез протягом 1 години.
 - 4.4. Візуалізація та аналіз результатів:
 - Після завершення електрофорезу перегляньте гель під УФ-світлом.
 - Зробіть фотографію гелю для подальшого аналізу.
5. Порівняння зразків та визначення відповідності.
- 5.1. Аналіз гелю:
 - Порівняйте смуги ДНК зі зразків із смугами ДНК контролів або підозрюваних осіб (якщо такі надані).
 - 5.2. Інтерпретація результатів:
 - Визначте, чи є збіги в патернах смуг, що може свідчити про спільне джерело ДНК.
 - 5.3. Висновки:
 - Запишіть свої спостереження та зробіть висновки

щодо ідентифікації ДНК.

Режим доступу до виконання роботи на платформі : [Хід роботи "Полімеразна ланцюгова реакція \(ПЛР\) та її застосування"](#).

Обговорення та висновки.

Завдання для обговорення:

1. Роль ДНК-полімерази в реплікації та синтезі ДНК:
 - Поясніть, як ДНК-полімераза каталізує синтез нового ланцюга ДНК, додаючи нуклеотиди до 3'-кінця праймера.
 - Обговоріть особливості Taq-полімерази та її значення для проведення ПЛР при високих температурах.
 - Чому ДНК-полімерази з інших організмів не підходять для ПЛР?
2. Полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР):
 - Опишіть основні етапи ПЛР: денатурація, аннелювання, елонгація.
 - Як праймери забезпечують специфічність ПЛР, і чому це важливо для точності експерименту?
 - Які чинники можуть впливати на ефективність ПЛР та як їх оптимізувати?
3. Гель-електрофорез та аналіз ДНК:
 - Поясніть принцип роботи гель-електрофорезу та як він дозволяє розділити ДНК-фрагменти за розміром.
 - Яку роль відіграє ДНК-ладер у визначенні розміру невідомих фрагментів?
 - Обговоріть можливі причини отримання нечітких або неспецифічних смуг на гелі та способи їх уникнення.

Завдання для висновків:

1. Аналіз проведеного ПЛР-експерименту:
 - Оцініть успішність вашого ПЛР: чи отримали ви очікувані продукти ампліфікації?
 - Які можливі джерела помилок могли вплинути на результати (наприклад, помилки в приготуванні реакційної суміші, контамінація, неточності в програмуванні термоциклера)?
 - Що можна зробити для покращення результатів у майбутніх експериментах?
2. Інтерпретація результатів гель-електрофорезу:

- Порівняйте отримані смуги ДНК зі зразка з ДНК-ладером та визначте розмір фрагментів.
 - Чи спостерігається збіг між зразком з місця злочину та зразками підозрюваних?
 - Які висновки можна зробити на основі цього порівняння?
3. Важливість асептичної техніки та точності в лабораторних процедурах:
- Поясніть, як дотримання асептичної техніки вплинуло на достовірність вашого заняття.
 - Які наслідки може мати контамінація зразків для результатів дослідження?
 - Які заходи можна вжити, щоб запобігти контамінації та забезпечити точність експериментів у майбутньому?

Оцінювання та зворотний зв'язок.

Методи оцінювання:

✓ Під час виконання роботи передбачається тестування на платформі або в аудиторії, практичні запитання від викладача.

✓ Зазначте, як ці методи допомогли вам засвоїти матеріал та які аспекти були найбільш корисними.

Отриманий зворотний зв'язок:

✓ Опишіть, як зворотний зв'язок сприяв покращенню вашого розуміння теми та навичок роботи в лабораторії.

Самоаналіз:

✓ Проаналізуйте власну роботу та підхід до виконання завдань. Визначте, що було зроблено добре, а над чим варто працювати.

✓ Встановіть цілі для подальшого покращення своїх знань та навичок у цій галузі.

Рекомендації для майбутніх робіт:

✓ Поділіться своїми пропозиціями щодо покращення практичного заняття. Це можуть бути ідеї щодо обладнання, методів або додаткових ресурсів.

✓ Зазначте, як отриманий досвід може бути застосований у майбутніх дослідженнях або професійній діяльності.

Оформлення звіту про виконання практичного заняття. Звіт виконується відповідно до форми та завантажується на перевірку у

Практичне заняття №4. Технологія редагування геному за допомогою CRISPR-Cas9.

Мета заняття. Надати студентам інформацію про технологію CRISPR-Cas9 для зворотного перетворення епітеліально-мезенхімального переходу (ЕМП) у клітинах. Розвинути розуміння молекулярних механізмів ЕМП, методів його індукції та зворотного перетворення, а також оцінити потенціал CRISPR-Cas9.

Теоретичні відомості. Епітеліально-мезенхімальний перехід (ЕМП) - це біологічний процес, під час якого диференційовані епітеліальні клітини трансформуються в клітини з мезенхімним фенотипом. Ця трансформація супроводжується:

- Втратою міжклітинних з'єднань.
- Реорганізацією цитоскелету.
- Підвищенням клітинної рухливості.
- Змінами позаклітинного матриксу.

ЕМП відіграє важливу роль у процесах ембріогенезу, розвитку органів, регенерації тканин, але також пов'язаний зі злоякісністю при раку.

Сигнальний шлях TGF-бета. Фактор росту трансформації бета (TGF-бета) - сигнальний шлях, залучений у багатьох клітинних процесах:

1. Зв'язування TGF-бета з рецепторами (спочатку з типом II, який залучає та фосфорилує рецептор типу I).
2. Фосфорилування SMAD-білків 2/3 рецептором типу I.
3. Утворення комплексу SMAD 2/3 з SMAD 4.
4. Транслокація комплексу в ядро та регуляція експресії цільових генів.

TGF-бета може індукувати ЕМП, активуючи експресію генів, пов'язаних з мезенхімним фенотипом.

Імунофлуоресценція - метод, що використовує флуорофори, зв'язані з антитілами, для виявлення специфічних антигенів у клітинах або тканинах.

Важливі аспекти:

- Підготовка клітин: фіксація та пермеабілізація для

збереження структури та доступності антигенів.

- Використання антитіл: первинні антитіла зв'язуються з цільовим білком, вторинні - з первинними та містять флуорофори.
- Флуоресцентні зонди: вибір флуорофорів з урахуванням спектрів збудження та випромінювання.

Методи детекції:

- Флуоресцентна мікроскопія - для якісного аналізу локалізації білків.
- Флоуцитометрія (FACS) - для кількісного аналізу експресії білків.

CRISPR-Cas - сучасний метод редагування геному, заснований на захисному механізмі бактерій. Дозволяє точно змінювати послідовності ДНК, вносячи мутації або видаляючи/вставляючи гени. Широко використовується в дослідженнях генетичних захворювань та біотехнології.

Е-кадгерин та F-актін:

- Е-кадгерин — трансмембранний білок епітеліальних клітин, важливий для міжклітинної адгезії. При ЕМП його експресія знижується, що сприяє відокремленню клітин.
- F-актін — філаментозна форма актину, основного компонента цитоскелету. Відповідає за форму клітини, рухливість та контрактильність. Зміни в організації F-актину спостерігаються під час ЕМП.

Режим доступу до теоретичної частини : [Теорія "Технологія редагування геному за допомогою CRISPR-Cas9"](#).

Цілі навчання:

- ✓ Уміння порівнювати експресію молекулярних маркерів та робити висновки про ефективність експерименту.
- ✓ Здатність оцінювати можливості та обмеження використання CRISPR-Cas9 у терапевтичних цілях.

Хід виконання. Перед початком роботи переконайтеся, що Вас додано до списку груп виконавців лабораторної роботи. Відповідно до розкладу переконайтесь в місці та даті проведення роботи. Дотримуйтесь термінів встановлених до виконання цієї роботи. Під час виконання роботи передбачається тестування на платформі.

Дотримуйтесь наступного алгоритму роботи:

1. Індукція ЕМП в клітинах:

- Підготовка клітин:
 - Культивуйте клітини в відповідному поживному середовищі.
 - Додавання TGF-бета:
 - Додайте до середовища TGF-бета для індукції ЕМП.
 - Інкубація:
 - Інкубуйте клітини протягом заданого часу (наприклад, 48-72 години) для прояву ознак ЕМП.
2. Проведення імуофлуоресцентного аналізу:
- Розробка протоколу імуофарбування:
 - Фіксація клітин: Оберіть оптимальний метод фіксації (наприклад, параформальдегідом).
 - Пермеабілізація: Виберіть агент для пермеабілізації мембран (наприклад, Triton X-100).
 - Блокування неспецифічних зв'язків: Використайте сироватку або білок для блокування.
 - Інкубація з антитілами:
 - Первинні антитіла: Додайте антитіла до маркерів ЕМП (наприклад, E-кадгерин, віментин).
 - Вторинні антитіла: Використайте флуоресцентно мічені антитіла, сумісні з первинними.
 - Візуалізація:
 - Спостерігайте клітини під флуоресцентним мікроскопом та ідентифікуйте ознаки ЕМП.
3. Застосування CRISPR-Cas9 для нокауту специфічного гену:
- Вивчення механізму CRISPR-Cas9:
 - Ознайомтеся з принципом дії технології на молекулярному рівні.
 - Дизайн компоненту CRISPR-Cas9:
 - Розробіть sgРНК, специфічну до цільового гену, пов'язаного з ЕМП.
 - Перевірте послідовність на наявність

- позацільових ефектів.
- Трансфекція клітин:
 - Введіть конструкцію CRISPR-Cas9 в клітини за допомогою відповідного методу (наприклад, ліпофекція).
 - Інкубація після трансфекції:
 - Дайте клітинам час для експресії Cas9 та дії на геном.
4. Оцінка результатів після застосування CRISPR-Cas9:
- Повторний імунофлуоресцентний аналіз:
 - Проведіть імунофарбування для тих самих маркерів ЕМП.
 - Порівняння результатів:
 - Порівняйте експресію маркерів до та після нокауту гену.
 - Визначте, чи відбулося зворотне перетворення ЕМП.
5. Аналіз та висновки:
- Оцінка ефективності:
 - Проаналізуйте, наскільки ефективно CRISPR-Cas9 зворотив ЕМП.
 - Можливості терапевтичного застосування:
 - Розгляньте потенціал використання CRISPR-Cas9 як терапевтичного підходу при лікуванні раку молочної залози.
 - Обговорення покращень:
 - Визначте можливі зміни в протоколі для підвищення ефективності.

Режим доступу до виконання роботи на платформі : [Хід роботи "Технологія редагування геному за допомогою CRISPR-Cas9"](#).

Обговорення та висновки.

Завдання для обговорення:

1. Молекулярні маркери ЕМП та їх ідентифікація:
 - Які біохімічні та структурні зміни відбуваються під час епітеліально-мезенхімального переходу (ЕМП)?
 - Чому Е-кадгерин та F-актін є ключовими маркерами для виявлення ЕМП?
 - Як імунофлуоресцентний аналіз допомагає вивчати

- ці зміни в клітинах раку молочної залози?
2. Сигнальний шлях TGF-бета в індукції ЕМП:
 - Опишіть роль TGF-бета в процесі індукції ЕМП.
 - Які етапи сигнального шляху TGF-бета та як вони впливають на експресію цільових генів?
 - Обговоріть можливі терапевтичні підходи, спрямовані на модулювання цього шляху у лікуванні раку.
 3. Технологія CRISPR-Cas9 у звороті ЕМП:
 - Поясніть принцип дії CRISPR-Cas9 та її застосування у редагуванні геному.
 - Як CRISPR-Cas9 може бути використана для нокауту генів, пов'язаних з ЕМП?
 - Які переваги та ризики пов'язані з використанням CRISPR-Cas9 у біомедичних дослідженнях і терапії?

Завдання для висновків:

1. Оцінка налаштування протоколу імунофлуоресценції:
 - Чи вдалося правильно підготувати клітини для імунофарбування з урахуванням локалізації цільового білка?
 - Які помилки були допущені у протоколі, і як їх можна було уникнути?
 - Як вибір відповідних вторинних антитіл вплинув на якість отриманих результатів?
2. Аналіз результатів застосування CRISPR-Cas9:
 - Чи ефективно був нокаutowаний цільовий ген за допомогою CRISPR-Cas9?
 - Які зміни в молекулярних маркерах ЕМП спостерігалися після нокауту?
 - Що свідчить про можливість зворотного перетворення ЕМП у клітинах раку молочної залози?
3. Розвиток навичок та знань:
 - Які нові знання та навички ви отримали під час виконання цього практичного заняття?
 - Як досвід аналізу помилок у протоколах допоміг вам критично мислити та вирішувати проблеми?
 - Як ви можете застосувати отримані знання про ЕМП та CRISPR-Cas9 у майбутніх дослідженнях або

професійній діяльності?

Оцінювання та зворотний зв'язок.

Методи оцінювання:

✓ Під час виконання роботи передбачається тестування на платформі або в аудиторії, практичні запитання від викладача.

✓ Зазначте, як ці методи допомогли вам засвоїти матеріал та які аспекти були найбільш корисними.

Отриманий зворотний зв'язок:

✓ Опишіть, як зворотний зв'язок сприяв покращенню вашого розуміння теми та навичок роботи в лабораторії.

Самоаналіз:

✓ Проаналізуйте власну роботу та підхід до виконання завдань. Визначте, що було зроблено добре, а над чим варто працювати.

✓ Встановіть цілі для подальшого покращення своїх знань та навичок у цій галузі.

Рекомендації для майбутніх робіт:

✓ Поділіться своїми пропозиціями щодо покращення практичного заняття. Це можуть бути ідеї щодо обладнання, методів або додаткових ресурсів.

✓ Зазначте, як отриманий досвід може бути застосований у майбутніх дослідженнях або професійній діяльності.

Оформлення звіту про виконання практичного заняття. Звіт виконується відповідно до форми та завантажується на перевірку у навчальну платформу університету [Навчальна дисципліна «Біоінженерія»](#).

Практичне заняття №5. Екстракція та аналіз РНК.

Мета заняття. Надати студентам інформацію про екстракцію та аналіз РНК. Розуміння виділення та очищення матричної РНК (мРНК) із жирової для подальшого аналізу експресії генів..

Теоретичні відомості. Кожна клітина містить повний геном, але виражений лише певний набір генів у конкретний момент. Експресія генів надає клітині її характеристики та функціональність. Це динамічний процес, де гени можуть вмикатися та вимикатися у відповідь на внутрішні та зовнішні стимули.

Ген вважається експресованим, коли він транскрибується і

утворюється функціональний продукт. Прямим продуктом транскрипції є молекули РНК: матрична РНК (мРНК), регуляторні РНК (наприклад, мікроРНК) або структурні РНК (наприклад, рРНК). У випадку білок-кодуючих генів кількість мРНК відображає рівень експресії гена.

Екстракція РНК методом гуанід тіоціанат-фенол-хлороформу. Для ізоляції загальної РНК часто використовують метод гуанід тіоціанат-фенол-хлороформної екстракції із застосуванням реагенту TRIzol. Цей метод включає:

1. Лізис клітин та руйнування структур.
2. Розділення РНК від клітинного детриту.
3. Очищення РНК від ДНК та білків.
4. Преципітація РНК додаванням ізопропанолу.
5. Промивка та редиспергування РНК у воді без РНКаз.

Додавання хлороформу призводить до фазового розділення:

- Верхня водна фаза: містить РНК.
- Міжфазова зона: містить ДНК.
- Нижня органічна фаза: містить білки.

Після екстракції необхідно оцінити концентрацію, чистоту та якість РНК перед подальшим аналізом.

Очищення мРНК за допомогою магнітних кульок. Для очистки мРНК від загальної РНК використовують магнітні кульки з приєднаними оліго(dT) фрагментами, що зв'язуються з полі(A)-хвостами мРНК. Процедура:

1. Зв'язування мРНК з кульками через полі(A)-хвості.
2. Відокремлення кульок у магнітному штативі.
3. Промивка для видалення небажаних матеріалів.
4. Елюція мРНК від кульок та перенесення у нову пробірку.

Цей метод дозволяє отримати чисту мРНК для подальших досліджень, наприклад, кількісної ПЛР або секвенування нового покоління.

Режим доступу до теоретичної частини : [Теорія "Екстракція та аналіз РНК"](#).

Цілі навчання:

- ✓ Опанувати методику екстракції загальної РНК із клітин жирової тканини.
- ✓ Навчитися очищувати мРНК із загальної РНК та оцінювати якість отриманих зразків.

Хід виконання. Перед початком роботи переконайтеся, що Вас додано до списку груп виконавців лабораторної роботи. Відповідно до розкладу переконайтеся в місці та даті проведення роботи. Дотримуйтеся термінів встановлених до виконання цієї роботи. Під час виконання роботи передбачається тестування на платформі.

Дотримуйтеся наступного алгоритму роботи:

1. Збір зразків жирової тканини:

- Транспортування зразків:
 - Помістіть зразки у стерильні контейнери з охолодженням.
 - Швидко доставте їх до лабораторії для подальшої обробки.

2. Підготовка зразків та екстракція загальної РНК:

- Лізис клітин:
 - Подрібніть зразки жирової тканини механічно або за допомогою гомогенізатора.
 - Додайте лізисний буфер, що містить гуанідітіоціанат та фенол, для руйнування клітинних мембран і денатурації білків.
- Екстракція РНК:
 - Додайте хлороформ для фазового розділення суміші.
 - Центрифугуйте зразки, щоб відокремити водну фазу (містить РНК) від органічної та міжфазової (містять ДНК та білки).
 - Обережно зберіть верхню водну фазу до нової пробірки.

3. Очищення матричної РНК (мРНК):

- Преципітація РНК:
 - Додайте ізопропанол до водної фази для осадження РНК.
 - Центрифугуйте зразки, щоб отримати осад РНК.
 - Промийте осад 75% етанолом для видалення солей та домішок.
- Очищення мРНК за допомогою магнітних кульок:
 - Розчиніть осад РНК у воді без РНКаз.
 - Додайте магнітні кульки з приєднаними оліго(dT), які зв'язуються з полі(A)-хвостами мРНК.
 - Інкубуйте суміш для забезпечення зв'язування мРНК

з кульками.

- Помістіть пробірки на магнітний штатив, щоб відокремити кульки з мРНК від розчину.
- Промийте кульки 80% етанолом для видалення небажаних домішок.
- Елююйте мРНК з кульок, додаючи відповідний буфер, та перенесіть розчин чистої мРНК до нової пробірки.

4. Оцінка якості та концентрації мРНК:

- Вимірювання концентрації:
 - Використайте спектрофотометр для визначення концентрації мРНК при довжині хвилі 260 нм.
- Оцінка чистоти:
 - Зробіть співвідношення поглинання при 260/280 нм та 260/230 нм для оцінки чистоти мРНК.
- Перевірка інтегритету мРНК:
 - Проведіть гель-електрофорез на агарозному гелі, щоб візуалізувати смуги мРНК та перевірити відсутність деградації.

5. Аналіз отриманих даних:

- Інтерпретація результатів спектрофотометрії:
 - Оцініть концентрацію та чистоту зразків.
- Аналіз електрофорезу:
 - Переконайтеся, що мРНК не деградована та підходить для подальших експериментів.

Режим доступу до виконання роботи на платформі : [Хід роботи "Екстракція та аналіз РНК"](#).

Обговорення та висновки.

Завдання для обговорення:

1. Генетичні фактори впливу на ожиріння:
 - Як мутації в генах або регуляторних елементах можуть збільшувати схильність до ожиріння?
 - Чому зміни рівня експресії генів є важливими для розуміння генетичного підґрунтя ожиріння?
 - Яким чином вивчення відмінностей у експресії генів між огрядними та худими особинами може привести до ідентифікації ключових генів, пов'язаних із ожирінням?

2. Методики екстракції та очищення мРНК:

- У чому полягає принцип методу гуанідітіоціанат-фенол-хлороформної екстракції РНК, і які його переваги?
- Як магнітні кульки з оліго(dT) дозволяють вибірково очистити мРНК з загальної РНК?
- Які критичні кроки необхідно контролювати під час екстракції та очищення мРНК, щоб забезпечити високу якість зразків?

Завдання для висновків:

1. Аналіз якості отриманих зразків мРНК:

- Чи вдалося отримати чисту та не деградовану мРНК з жирової тканини?
- Які результати спектрофотометрії та гелелектрофорезу підтвердили якість та інтегритет мРНК?
- Як якість мРНК вплине на достовірність подальших генетичних аналізів, таких як кількісна ПЛР або секвенування?

2. Оцінка методології та власних навичок:

- З якими викликами ви стикнулися під час екстракції та очищення мРНК, і як ви їх подолали?
- Які нові навички та знання ви здобули в процесі виконання цього практичного заняття?
- Які аспекти методики або власної роботи ви б хотіли вдосконалити в майбутніх експериментах?

Оцінювання та зворотний зв'язок.

Методи оцінювання:

✓ Під час виконання роботи передбачається тестування на платформі або в аудиторії, практичні запитання від викладача.

✓ Зазначте, як ці методи допомогли вам засвоїти матеріал та які аспекти були найбільш корисними.

Отриманий зворотний зв'язок:

✓ Опишіть, як зворотний зв'язок сприяв покращенню вашого розуміння теми та навичок роботи в лабораторії.

Самоаналіз:

✓ Проаналізуйте власну роботу та підхід до виконання завдань. Визначте, що було зроблено добре, а над чим варто

працювати.

✓ Встановіть цілі для подальшого покращення своїх знань та навичок у цій галузі.

Рекомендації для майбутніх робіт:

✓ Поділіться своїми пропозиціями щодо покращення практичного заняття. Це можуть бути ідеї щодо обладнання, методів або додаткових ресурсів.

✓ Зазначте, як отриманий досвід може бути застосований у майбутніх дослідженнях або професійній діяльності.

Оформлення звіту про виконання практичного заняття. Звіт виконується відповідно до форми та завантажується на перевірку у навчальну платформу університету [Навчальна дисципліна «Біоінженерія»](#).

Практичне заняття №6. Генетичний трансфер та горизонтальне перенесення генів у бактеріях.

Мета заняття. Вивчити механізми горизонтального переносу генів у бактерій та зрозуміти їхню роль у виникненні супербактерій і розвитку антибіотикорезистентності.

Теоретичні відомості. Горизонтальне перенесення генів (ГПГ) - це переміщення генетичних елементів між клітинами, які не є прямими нащадками одна одної. На відміну від вертикального генетичного трансферу, ГПГ дозволяє обмін генами між різними видами бактерій.

Горизонтальне перенесення генів може відбуватися наступними способами:

- Кон'югація;
- Трансформація;
- Трансдукція.

З цих трьох механізмів кон'югація вважається найбільш впливовою у поширенні генів стійкості до антибіотиків.

Не всі горизонтальні перенесення генів призводять до утворення клітини з новою комбінацією генів (рекомбінанта). Передана ДНК у новій клітині може мати такі ситуації:

- ДНК може бути знищена рестрикційними ендонуклеазами.
- ДНК може реплікуватися самостійно, незалежно від механізмів хромосоми (наприклад, плазміда).

- ДНК може бути інтегрована в хромосому, утворюючи рекомбінант.

Вчені з Гарвардської медичної школи та Техніон-Ізраїльського технологічного інституту розробили експеримент, який моделює еволюцію бактерій до антибіотикорезистентності. Експеримент називається MEGA-пластина (від англ. Microbial Evolution and Growth Arena). В експерименті використовуються:

- Культура чутливих до антибіотиків бактерій.
- Гігантська пластина розміром 120 x 60 см, яка містить середовище з поступовим збільшенням концентрації антибіотика.
- Лабораторні умови, придатні для двотижневої інкубації.

Спочатку бактерії ростуть на ділянці пластини без антибіотика. Через кілька годин колонії заповнюють всі ділянки без антибіотика. Потім ріст сповільнюється перед тим, як колонії зможуть перейти до наступної ділянки з 10-разовою концентрацією антибіотика. Процес повторюється, доки колонії не досягнуть ділянки з концентрацією антибіотика у 1000 разів вищою. Весь експеримент тривав приблизно 2 тижні.

Експеримент показує, що бактерії здатні мутувати та досягати стійкості до високих концентрацій антибіотиків відносно швидко.

Режим доступу до теоретичної частини : [Теорія "Генетичний трансфер та горизонтальне перенесення генів у бактеріях"](#).

Цілі навчання:

- ✓ Ознайомитися з основами бактеріальної генетики;
- ✓ Дослідити методи горизонтального переносу генів.

Хід виконання. Перед початком роботи переконайтеся, що Вас додано до списку груп виконавців лабораторної роботи. Відповідно до розкладу переконайтесь в місці та даті проведення роботи. Дотримуйтесь термінів встановлених до виконання цієї роботи. Під час виконання роботи передбачається тестування на платформі.

Дотримуйтесь наступного алгоритму роботи:

1. Вступне ознайомлення:
 - Обговорення проблеми супербактерій: Розглянемо глобальну загрозу для людства через те, що потужні антибіотики стають неефективними проти мультирезистентних бактерій.
2. Вивчення основ бактеріальної генетики:

- Мутації та генетичні елементи бактерій:
 - Розгляд структур хромосом та плазмід у бактерій.
 - Обговорення ролі мутацій у розвитку антибіотикорезистентності.
- 3. Віртуальне занурення у мікробний світ
 - Мікроскопічне середовище:
 - Спостереження: Взаємодія з віртуальними бактеріями, плазмідами та бактеріофагами.
 - Завдання: Визначити можливий тип горизонтального переносу генів, базуючись на характеристиках бактерій та оточуючих факторів.
 - Аналіз ситуацій:
 - Сценарії переносу: Розгляд різних умов та передбачення, який механізм переносу відбудеться.
 - Обговорення: Колективне обговорення висновків та обґрунтування вибору.

Режим доступу до виконання роботи на платформі : [Хід роботи "Генетичний трансфер та горизонтальне перенесення генів у бактеріях"](#).

Обговорення та висновки.

Завдання для обговорення:

1. Вплив горизонтального переносу генів на еволюцію бактерій:
 - Як горизонтальний перенос генів сприяє швидкому набуттю бактеріями антибіотикорезистентності?
 - Чому саме кон'югація вважається найвпливовішим механізмом у поширенні генів резистентності?
 - Які екологічні та соціальні фактори можуть впливати на інтенсивність горизонтального переносу генів у природних умовах?
2. Глобальна загроза супербактерій:
 - Які потенційні наслідки для людства несе поширення мультирезистентних бактерій?
 - Обговоріть роль людської діяльності, зокрема надмірного використання антибіотиків, у виникненні

- супербактерій.
 - Які стратегії можна застосувати на глобальному рівні для запобігання розвитку та поширення супербактерій?
3. Інноваційні підходи в боротьбі з антибіотикорезистентністю:
- Як біотехнології та біоінженерія можуть допомогти у розробці нових методів лікування бактеріальних інфекцій?
 - Розгляньте можливості використання бактеріофагів або CRISPR-Cas систем у боротьбі з резистентними бактеріями.
 - Які етичні та безпекові питання виникають при впровадженні таких інноваційних методів?

Завдання для висновків:

1. Аналіз результатів експериментів з MEGA-пластиною:
 - Підсумуйте, як мутації дозволили бактеріям подолати зони високих концентрацій антибіотиків.
 - Які етапи еволюції бактерій ви спостерігали під час експерименту?
 - Як результати експерименту демонструють здатність бактерій до швидкої адаптації?
2. Розуміння механізмів горизонтального переносу:
 - Опишіть основні відмінності між кон'югацією, трансформацією та трансдукцією.
 - Які умови необхідні для кожного з механізмів переносу генів?
 - Як ці механізми впливають на генетичне різноманіття бактеріальних популяцій?
3. Значення отриманих знань для майбутньої професійної діяльності:
 - Як розуміння процесів антибіотикорезистентності може вплинути на вашу майбутню роботу в галузі біоінженерії?
 - Які кроки ви можете зробити як фахівці, щоб сприяти зменшенню поширення супербактерій?
 - Як міждисциплінарний підхід може допомогти у вирішенні проблеми антибіотикорезистентності?

Оцінювання та зворотний зв'язок.

Методи оцінювання:

✓ Під час виконання роботи передбачається тестування на платформі або в аудиторії, практичні запитання від викладача.

✓ Зазначте, як ці методи допомогли вам засвоїти матеріал та які аспекти були найбільш корисними.

Отриманий зворотний зв'язок:

✓ Опишіть, як зворотний зв'язок сприяв покращенню вашого розуміння теми та навичок роботи в лабораторії.

Самоаналіз:

✓ Проаналізуйте власну роботу та підхід до виконання завдань. Визначте, що було зроблено добре, а над чим варто працювати.

✓ Встановіть цілі для подальшого покращення своїх знань та навичок у цій галузі.

Рекомендації для майбутніх робіт:

✓ Поділіться своїми пропозиціями щодо покращення практичного заняття. Це можуть бути ідеї щодо обладнання, методів або додаткових ресурсів.

✓ Зазначте, як отриманий досвід може бути застосований у майбутніх дослідженнях або професійній діяльності.

Оформлення звіту про виконання практичного заняття. Звіт виконується відповідно до форми та завантажується на перевірку у навчальну платформу університету [Навчальна дисципліна «Біоінженерія»](#).

Практичне заняття №7. Клітинні культури та основи тканинної інженерії.

Мета заняття. Ознайомити студентів із базовими принципами тканинної інженерії.

Теоретичні відомості. Тканинна інженерія спрямована на використання природної здатності організму до регенерації, поєднуючи ендogenous клітини, матриксні носії (біоматеріали) та сигнальні молекули (фактори росту) для підтримки та спрямування процесів відновлення. Основна ідея полягає у створенні нової функціональної живої тканини за допомогою клітин, які розміщуються на матриці або каркасі, що сприяє правильному розвитку тканини.

Полімери відіграють важливу роль у створенні таких матриць. Полімер - це макромолекула, складена з багатьох повторюваних субодниць — мономерів. Мономери з'єднуються між собою в процесі полімеризації, утворюючи полімерні ланцюги або мережі.

Зшивання (крос-лінкінг) - це процес об'єднання полімерних ланцюгів або мономерів між собою через фізичні або хімічні взаємодії. Це створює тривимірну мережу, яка значно впливає на фізико-хімічні властивості матеріалу, зокрема на його механічну міцність та еластичність.

Механічні властивості гідрогелів, які часто використовуються як матриці в тканинній інженерії, залежать від концентрації полімерів та щільності зшивання. Вони визначають здатність гідрогелю витримувати механічні навантаження з боку клітин та оточуючих тканин. Підвищення концентрації полімеру або щільності зшивання призводить до збільшення міцності гелю та його жорсткості, що може бути критично важливим для підтримки структури новоствореної тканини.

Розуміння цих фундаментальних концепцій є ключовим для успішного застосування методів клітинних культур та технологій тканинної інженерії в регенеративній медицині та біоінженерії.

Режим доступу до теоретичної частини : [Теорія "Клітинні культури та основи тканинної інженерії"](#).

Хід виконання. Перед початком роботи переконайтеся, що Вас додано до списку груп виконавців лабораторної роботи. Відповідно до розкладу переконайтесь в місці та даті проведення роботи. Дотримуйтесь термінів встановлених до виконання цієї роботи. Під час виконання роботи передбачається тестування на платформі.

Дотримуйтесь наступного алгоритму роботи:

1. Визначення основних елементів тканинної інженерії.
 - Сценарій: Спортивний лікар звертається по допомогу в лікуванні травмованого футболіста. Це створює практичний контекст для застосування теоретичних знань.
 - Вивчення трьох принципових елементів:
 - Клітини: Розглядається роль ендогенних клітин у процесах регенерації тканин.
 - Матриці (каркаси): Обговорюється важливість біоматеріалів як основи для росту

- нової тканини.
 - Сигнали (фактори росту): Вивчається, як сигнальні молекули стимулюють диференціацію та проліферацію клітин.
 - Дослідження полімерів: Ознайомлення з характеристиками двох полімерів, які будуть використані для створення гідрогелевого каркаса. Розгляд їх фізико-хімічних властивостей та взаємодій.
2. Синтез гідрогелевого каркаса.
- Планування експерименту:
 - Вибір полімерів: На основі вивчених властивостей обираються полімери для експериментальних досліджень.
 - Вибір методів зшивання: Розглядаються два методи зшивання — іонний та метод Міхеля (Michael addition method).
 - Проведення експериментів:
 - Експеримент 1 - Іонне зшивання:
 - Підготовка розчинів обраних полімерів.
 - Проведення процесу зшивання шляхом додавання іонного агента.
 - Спостереження за формуванням гідрогелю та фіксація отриманих даних.
 - Експеримент 2 - Метод Міхеля:
 - Підготовка іншої комбінації полімерів.
 - Виконання зшивання за методом Міхеля, спостерігаючи за хімічною реакцією між полімерами.
 - Запис результатів та порівняння з даними першого експерименту.
 - Спостереження реакцій: Після кожного експерименту уважно аналізуються хімічні або фізичні реакції, що відбуваються під час затвердіння гідрогелю. Фіксуються зміни кольору, в'язкості, часу

затвердіння та інші важливі параметри.

3. Аналіз механічних властивостей гідрогелів:

- Отримання зразків: Зібрано кілька гідрогелевих каркасів, створених різними методами зшивання та з різними концентраціями полімерів.

Режим доступу до виконання роботи на платформі : [Хід роботи "Клітинні культури та основи тканинної інженерії"](#).

Обговорення та висновки.

Завдання для обговорення:

1. Методи зшивання та їх вплив на властивості гідрогелів:

- Які відмінності між іонним зшиванням та методом Майкла (Michael addition method)?
- Як обраний метод зшивання впливає на механічні властивості синтезованих гідрогелів?
- В яких ситуаціях один метод зшивання може бути більш переважним за інший?

2. Аналіз механічних властивостей гідрогелів за допомогою реології:

- Як концентрація полімерів та щільність зшивання впливають на реологічні характеристики гідрогелю?
- Чому важливо враховувати температуру при аналізі механічних властивостей гідрогелів?
- Яким чином механічні властивості гідрогелю визначають його придатність для використання в якості заміни суглобового хряща?

Завдання для висновків:

1. Практичне застосування отриманих знань:

- Як набуті знання про полімери та методи зшивання можуть бути застосовані в інших областях біоінженерії?
- Які потенційні перешкоди можуть виникнути при впровадженні синтезованих гідрогелів у клінічну практику?
- Які додаткові дослідження необхідно провести для підвищення ефективності гідрогелів у тканинній інженерії?

2. Вплив тканинної інженерії на майбутнє медицини:

- Як розвиток технологій тканинної інженерії може

змінити підходи до лікування травм та захворювань опорно-рухового апарату?

- Які етичні та безпекові питання виникають при використанні біоматеріалів та клітинних культур у медицині?
- Як міждисциплінарний підхід сприяє успіхам у регенеративній медицині, і яку роль відіграють різні наукові галузі?

Оцінювання та зворотний зв'язок.

Методи оцінювання:

✓ Під час виконання роботи передбачається тестування на платформі або в аудиторії, практичні запитання від викладача.

✓ Зазначте, як ці методи допомогли вам засвоїти матеріал та які аспекти були найбільш корисними.

Отриманий зворотний зв'язок:

✓ Опишіть, як зворотний зв'язок сприяв покращенню вашого розуміння теми та навичок роботи в лабораторії.

Самоаналіз:

✓ Проаналізуйте власну роботу та підхід до виконання завдань. Визначте, що було зроблено добре, а над чим варто працювати.

✓ Встановіть цілі для подальшого покращення своїх знань та навичок у цій галузі.

Рекомендації для майбутніх робіт:

✓ Поділіться своїми пропозиціями щодо покращення практичного заняття. Це можуть бути ідеї щодо обладнання, методів або додаткових ресурсів.

✓ Зазначте, як отриманий досвід може бути застосований у майбутніх дослідженнях або професійній діяльності.

Оформлення звіту про виконання практичного заняття. Звіт виконується відповідно до форми та завантажується на перевірку у навчальну платформу університету [Навчальна дисципліна «Біоінженерія»](#).

Практичне заняття №8. Біобезпека та біоетика в біоінженерії.

Мета заняття. Ознайомити студентів з принципами біобезпеки та практичними аспектами роботи в лабораторії рівня біобезпеки 3 (BSL-3), зокрема з конструкцією лабораторії, основними правилами безпеки та методами поводження з небезпечними патогенами.

Теоретичні відомості. Біобезпека в біоінженерії. Біобезпека стосується заходів і протоколів, спрямованих на запобігання ненавмисному чи навмисному впливу біологічних агентів. Ключові аспекти біобезпеки:

- Контроль над генетично модифікованими організмами (ГМО): Забезпечення безпечного використання ГМО, запобігання їх неконтрольованому поширенню та впливу на екосистеми.

- Лабораторна безпека: Дотримання стандартів роботи з потенційно небезпечними біологічними матеріалами, використання відповідного обладнання та засобів захисту.

- Біозахист: Попередження використання біотехнологій у терористичних або військових цілях, контроль за подвійним призначенням досліджень.

Біоетика в біоінженерії. Біоетика досліджує етичні аспекти наукових досліджень і технологічних розробок. Основні принципи біоетики:

- Повага до автономії особи: Забезпечення права індивідів на прийняття усвідомлених рішень щодо участі в дослідженнях чи лікуванні.

- Благодіяння та неущкодження: Максимізація користі та мінімізація шкоди при розробці та впровадженні біоінженерних технологій.

- Справедливість: Рівний доступ до новітніх біомедичних технологій незалежно від соціального чи економічного статусу.

Взаємодія біобезпеки та біоетики

- Регулятивна політика: Розробка законодавчої бази для контролю та нагляду за біоінженерними дослідженнями, враховуючи етичні стандарти та безпеку.

- Освіта та підвищення обізнаності: Навчання спеціалістів етичним та безпековим аспектам, інформування громадськості про потенційні ризики та переваги.

- Глобальне співробітництво: Міжнародні угоди та обмін інформацією для спільного вирішення біобезпечових викликів.

Виклики та перспективи. З одного боку, біоінженерія відкриває безпрецедентні можливості для медицини, сільського господарства та промисловості. З іншого боку, вона піднімає складні питання щодо етичного використання технологій, приватності, модифікації геному та потенційних ризиків для біорізноманіття.

Режим доступу до теоретичної частини : [Теорія "Біобезпека та біоетика в біоінженерії."](#)

Хід виконання. Перед початком роботи переконайтеся, що Вас додано до списку груп виконавців лабораторної роботи. Відповідно до розкладу переконайтесь в місці та даті проведення роботи. Дотримуйтесь термінів встановлених до виконання цієї роботи. Під час виконання роботи передбачається тестування на платформі.

Дотримуйтесь наступного алгоритму роботи:

1. Вступ до концепції лабораторного контейнменту:
 - Ознайомлення з поняттям лабораторного контейнменту, який необхідний для роботи з небезпечними патогенами.
 - Обговорення важливості дотримання вимог різних організацій та регуляторних інстанцій для безпечної маніпуляції такими патогенами.
2. Ознайомлення з лабораторією біобезпеки рівня 3 (BSL-3):
 - Віртуальний тур дослідницькою лабораторією рівня BSL-3.
 - Вивчення особливостей конструкції та обладнання лабораторії, які забезпечують високий рівень біобезпеки.
3. Вивчення базових протоколів лабораторної безпеки:
 - Ознайомлення з основними правилами безпеки, що застосовуються в лабораторіях рівня BSL-3.
 - Особисті засоби захисту (PPE): вивчення правильного одягання, використання та зняття.
 - Первинний контейнмент: розгляд обладнання та процедур, які запобігають поширенню патогенів.
 - Обговорення ролі кожного протоколу у забезпеченні

- безпеки персоналу та навколишнього середовища.
4. Детальне дослідження конструкції лабораторії для запобігання контамінації:
 - Контроль тиску в лабораторії:
 - Розуміння, чому тиск повітря в лабораторії повинен контролюватися постійно (вторинний контейнмент).
 - Вивчення систем вентиляції та їх ролі у підтримці негативного тиску.
 - Мікробіологічні шафи безпеки:
 - Ознайомлення з принципами роботи шаф та як вони забезпечують захист.
 - Практичне вивчення правильної роботи в таких шафах.
 5. Ідентифікація небезпеки:
 - Ознайомлення з гіпотетичним випадком потенційного агента, класифікованого як мікроорганізм третьої групи небезпеки.
 - Виконання завдання з ідентифікації цього патогену, використовуючи надані дані та лабораторні методи.
 - Обговорення етапів ідентифікації та важливості точного визначення патогену.
 6. Практичне застосування знань у реальних ситуаціях:
 - Розгляд сценаріїв, де необхідно застосувати отримані знання для запобігання поширенню небезпечних мікроорганізмів.
 - Обговорення дій у випадку аварійної ситуації або випадкового контакту з патогеном.

Режим доступу до виконання роботи на платформі : [Хід роботи "Біобезпека та біоетика в біоінженері"](#).

Обговорення та висновки.

Завдання для обговорення:

1. Принципи лабораторного контейнменту та біобезпеки:
 - Які ключові елементи конструкції лабораторії рівня біобезпеки 3 (BSL-3) забезпечують безпечну роботу з небезпечними патогенами?
 - Як первинний і вторинний контейнмент сприяють запобіганню контамінації в лабораторії BSL-3?

- Чому контроль тиску та повітряних потоків є критично важливим в лабораторіях високого рівня біобезпеки?
2. Протоколи безпеки та особисті засоби захисту:
 - Які особисті засоби захисту (PPE) необхідні для роботи в лабораторії BSL-3, і яку роль вони відіграють у забезпеченні безпеки?
 - Як мікробіологічні шафи безпеки функціонують для захисту персоналу та запобігання розповсюдженню патогенів?
 - Які основні правила асептичної техніки роботи в BSL-3 лабораторіях, і чому їх дотримання є обов'язковим?
 3. Ідентифікація небезпечних патогенів та біобезпека:
 - Які особливості *Bacillus anthracis* роблять його потенційним агентом та патогеном третьої групи небезпеки?
 - Як процес ідентифікації небезпечних мікроорганізмів здійснюється у контексті BSL-3 лабораторії?
 - Які етичні та правові аспекти слід враховувати при роботі з патогенами високого рівня небезпеки?

Завдання для висновків:

1. Аналіз дотримання протоколів біобезпеки:
 - Які можливі наслідки недотримання базових правил безпеки в лабораторії BSL-3 для персоналу та суспільства?
 - Як ефективні практики біобезпеки та асептики можуть мінімізувати ризики під час роботи з небезпечними патогенами?
 - Які рекомендації можна надати для покращення заходів біобезпеки в лабораторіях високого рівня?
2. Практичне застосування знань про лабораторний контейнмент:
 - Як отримані знання про конструкцію та функціонування BSL-3 лабораторії можуть бути застосовані в інших сферах біоінженерії?
 - Які технологічні інновації можуть підвищити ефективність та безпечність робіт у лабораторіях з

- високим рівнем біобезпеки?
- Як міжнародні стандарти та регуляції впливають на практику біобезпеки в різних країнах?
3. Роль освіти та підготовки в забезпеченні біобезпеки:
- Чому постійна освіта та тренінги персоналу є критичними для підтримки високих стандартів біобезпеки?
 - Як підвищення обізнаності про біобезпеку серед науковців та громадськості може вплинути на загальну безпеку?
 - Які навички та компетенції необхідні фахівцям для ефективної роботи в умовах BSL-3 лабораторій?

Оцінювання та зворотний зв'язок.

Методи оцінювання:

- ✓ Під час виконання роботи передбачається тестування на платформі або в аудиторії, практичні запитання від викладача.
- ✓ Зазначте, як ці методи допомогли вам засвоїти матеріал та які аспекти були найбільш корисними.

Отриманий зворотний зв'язок:

- ✓ Опишіть, як зворотний зв'язок сприяв покращенню вашого розуміння теми та навичок роботи в лабораторії.

Самоаналіз:

- ✓ Проаналізуйте власну роботу та підхід до виконання завдань. Визначте, що було зроблено добре, а над чим варто працювати.
- ✓ Встановіть цілі для подальшого покращення своїх знань та навичок у цій галузі.

Рекомендації для майбутніх робіт:

- ✓ Поділіться своїми пропозиціями щодо покращення практичного заняття. Це можуть бути ідеї щодо обладнання, методів або додаткових ресурсів.
- ✓ Зазначте, як отриманий досвід може бути застосований у майбутніх дослідженнях або професійній діяльності.

Оформлення звіту про виконання практичного заняття. Звіт виконується відповідно до форми та завантажується на перевірку у навчальну платформу університету [Навчальна дисципліна «Біоінженерія»](#).

Практичне заняття №9. Біоінформатика та аналіз геномних даних.

Мета заняття. Навчитися використовувати біоінформаційні методи та RNA-seq для ідентифікації генів, що кодують специфічні ферменти, шляхом аналізу та інтерпретації геномних даних.

Теоретичні відомості. Біоінформатика - це міждисциплінарна наука, яка об'єднує біологію, інформатику та математику для аналізу, зберігання та візуалізації біологічних даних. З розвитком технологій секвенування геному обсяги генетичної інформації зростають експоненційно, що вимагає застосування комп'ютерних методів для її обробки та інтерпретації.

Геномні дані - це інформація про повні послідовності ДНК організмів. Аналіз геномних даних дозволяє:

- Визначати структуру та функції генів.
- Виявляти генетичні варіації та мутації.
- Розуміти механізми спадковості та еволюції.
- Розробляти нові методи діагностики та лікування захворювань.

Основні етапи аналізу геномних даних:

1. Секвенування ДНК: Отримання послідовностей нуклеотидів за допомогою сучасних методів секвенування, таких як NGS (Next Generation Sequencing).
2. Преобробка даних: Очищення даних від помилок, фільтрація низькоякісних зчитувань, видалення адаптерних послідовностей.
3. Вирівнювання зчитувань: Зіставлення отриманих послідовностей з референтним геномом за допомогою алгоритмів вирівнювання (наприклад, BWA, Bowtie).
4. Виявлення варіантів: Ідентифікація мутацій, інсерцій, делецій, SNP (однонуклеотидних поліморфізмів) із використанням інструментів GATK, Samtools.
5. Анотація варіантів: Визначення функціонального значення знайдених варіантів за допомогою баз даних (Ensembl, dbSNP, ClinVar).
6. Візуалізація та інтерпретація: Представлення результатів у зручному форматі (використовуючи IGV, UCSC Genome Browser) для подальшого аналізу.

Біоінформаційні інструменти та ресурси:

- Мови програмування: Python, R — для обробки даних та статистичного аналізу.
- Бази даних: GenBank, EMBL, DDBJ — ресурси для зберігання та доступу до генетичної інформації.
- Аналіз експресії генів: Обробка RNA-seq даних для дослідження рівнів експресії генів.

Застосування біоінформатики:

- Медична генетика: Виявлення генетичних причин захворювань, розвиток персоналізованої медицини.
- Фармакогеноміка: Підбір ліків з урахуванням генетичних особливостей пацієнта для підвищення ефективності терапії.
- Сільське господарство: Генетичне покращення рослин і тварин для підвищення врожайності та стійкості до хвороб.
- Екологія та еволюція: Дослідження біорізноманіття та еволюційних процесів в екосистемах.

Біоінформатика та аналіз геномних даних є невід'ємною частиною сучасної біології та медицини. Володіння основними методами та інструментами дозволяє ефективно працювати з великими обсягами біологічної інформації, що відкриває нові можливості для наукових досліджень та практичного застосування.

Режим доступу до теоретичної частини : [Теорія "Біоінформатика та аналіз геномних даних"](#).

Хід виконання. Перед початком роботи переконайтеся, що Вас додано до списку груп виконавців лабораторної роботи. Відповідно до розкладу переконайтесь в місці та даті проведення роботи. Дотримуйтеся термінів встановлених до виконання цієї роботи. Під час виконання роботи передбачається тестування на платформі.

Дотримуйтеся наступного алгоритму роботи:

1. Секвенування кДНК та отримання геномних даних:
 - Екстракція РНК: Виділення мРНК з різних тканин рідкісної рослини, що має протималарійні властивості.
 - Синтез кДНК (сDNA): Здійснення зворотної транскрипції мРНК у комплементарну ДНК.
 - Секвенування нового покоління (NGS): Виконання секвенування синтезованої кДНК для отримання великого обсягу геномних даних.
2. Обробка та аналіз секвенсингових даних:

- Преобробка даних: Очищення зчитувань (reads) від помилок, видалення низькоякісних зчитувань та адаптерних послідовностей.
 - Вирівнювання зчитувань: Зіставлення отриманих послідовностей з референтним геномом або де ново складання транскриптома рослини.
 - Квантифікація експресії генів: Визначення рівнів експресії кожного гена у різних тканинах для виявлення найбільш активних генів.
3. Ідентифікація кандидатних генів за допомогою біоінформатичних інструментів:
- Виявлення диференційно експресованих генів: Порівняння рівнів експресії генів між тканинами, щоб визначити гени, специфічно активні в тканинах, де синтезується протималарійний компонент.
 - Анотація генів за допомогою BLAST: Використання інструменту BLAST для порівняння послідовностей кандидатних генів з відомими генами в базах даних та прогнозування їх функцій.
 - Філогенетичний аналіз: Побудова філогенетичних дерев для визначення спорідненості кандидатних генів з відомими ферментами, що бере участь у подібних метаболічних шляхах.
4. Вибір цільових генів та планування подальших досліджень
- Аналіз результатів: Обговорення отриманих даних та вибір генів, які найімовірніше кодують ферменти, залучені в біосинтез протималарійного компонента.
 - Планування генетичної інженерії: Розробка стратегії перенесення ідентифікованих генів до іншого організму (наприклад, бактерії або дріжджів) для масового виробництва препарату.
5. Обговорення значення біоінформатики в дослідженні:
- Роль біоінформатики: Підсумок того, як біоінформаційні методи та інструменти дозволили швидко та ефективно ідентифікувати потенційні гени-мішені.
 - Перспективи та етичні аспекти: Обговорення можливостей практичного застосування результатів

та розгляд етичних питань, пов'язаних із генетичною інженерією та біобезпекою.

Режим доступу до виконання роботи на платформі : [Хід роботи "Біоінформатика та аналіз геномних даних"](#).

Обговорення та висновки.

Завдання для обговорення:

1. Роль біоінформатики в сучасних дослідженнях:
 - Яким чином біоінформаційні методи та інструменти сприяли ідентифікації генів, відповідальних за синтез протималарійного компонента?
 - Які переваги та обмеження має метод RNA-seq при дослідженні генетичної експресії?
 - Як інтеграція біоінформатики з експериментальними методами змінює підходи до відкриття нових лікарських засобів?
2. Аналіз геномних даних та інструменти:
 - Які біоінформаційні інструменти були використані для обробки та аналізу великих обсягів секвенсингових даних, і чому вони були вибрані?
 - Як філогенетичний аналіз та BLAST допомагають у визначенні функцій невідомих генів?
 - Які фактори впливають на точність та надійність результатів при аналізі геномних даних?
3. Етичні та практичні аспекти генетичної інженерії:
 - Які потенційні ризики та переваги пов'язані з перенесенням метаболічних шляхів між організмами?
 - Як законодавство та регулювання впливають на дослідження, що включають генетичну модифікацію організмів?
 - Яким чином можна забезпечити біобезпеку та етичність при реалізації такого проекту?

Завдання для висновків:

1. Аналіз ефективності біоінформаційних методів:
 - Наскільки успішно були використані біоінформаційні інструменти для ідентифікації цільових генів?
 - Які труднощі виникли під час аналізу секвенсингових

- даних, і як їх вдалося подолати?
- Які висновки можна зробити щодо ролі біоінформатики в прискоренні наукових відкриттів?
2. Практичне застосування отриманих результатів:
- Які кроки необхідні для успішного перенесення метаболічного шляху в інший організм?
 - Які потенційні перешкоди можуть виникнути при впровадженні цього рішення, і як їх можна подолати?
3. Вплив дослідження на майбутнє біоінженерії та медицини:
- Як отриманий досвід можна застосувати в інших проектах з генетичної модифікації?
 - Які перспективи відкриваються перед науковою спільнотою завдяки поєднанню біоінформатики та генетичної інженерії?

Оцінювання та зворотний зв'язок.

Методи оцінювання:

✓ Під час виконання роботи передбачається тестування на платформі або в аудиторії, практичні запитання від викладача.

✓ Зазначте, як ці методи допомогли вам засвоїти матеріал та які аспекти були найбільш корисними.

Отриманий зворотний зв'язок:

✓ Опишіть, як зворотний зв'язок сприяв покращенню вашого розуміння теми та навичок роботи в лабораторії.

Самоаналіз:

✓ Проаналізуйте власну роботу та підхід до виконання завдань. Визначте, що було зроблено добре, а над чим варто працювати.

✓ Встановіть цілі для подальшого покращення своїх знань та навичок у цій галузі.

Рекомендації для майбутніх робіт:

✓ Поділіться своїми пропозиціями щодо покращення практичного заняття. Це можуть бути ідеї щодо обладнання, методів або додаткових ресурсів.

✓ Зазначте, як отриманий досвід може бути застосований у майбутніх дослідженнях або професійній діяльності.

Оформлення звіту про виконання практичного заняття. Звіт виконується відповідно до форми та завантажується на перевірку у навчальну платформу університету [Навчальна дисципліна](#)

Практичне заняття №10. Кінетика ферментативних реакцій та біокаталіз.

Мета заняття. Навчитися застосовувати принципи кінетики ферментативних реакцій та біокаталізу для оптимізації біотехнологічних процесів у біоінженерії.

Теоретичні відомості. Ферменти - це біологічні каталізатори білкової природи, що прискорюють хімічні реакції в організмі. Вони є ключовими елементами в регулюванні метаболічних процесів. У біоінженерії розуміння кінетики ферментативних реакцій є фундаментальним для розробки біотехнологічних процесів, синтезу біопродуктів та створення ефективних біокаталізаторів.

Основи кінетики ферментативних реакцій. Кінетика ферментативних реакцій вивчає швидкість перетворення субстрату в продукт за участю ферменту. Основна модель опису — рівняння Міхаеліса-Ментен:

$$V = \frac{V_{max} \cdot [S]}{K_m + [S]}$$

де: V - швидкість реакції; V_{max} - максимальна швидкість реакції при повному насиченні ферменту субстратом; $[S]$ - концентрація субстрату; K_m - константа Міхаеліса, що характеризує спорідненість ферменту до субстрату.

Значення параметрів у біоінженерії

- V_{max} дозволяє оцінити максимальну продуктивність ферменту, що важливо при масштабуванні процесів у біореакторах.
- K_m відображає ефективність зв'язування субстрату; низьке значення K_m свідчить про високу спорідненість (афінність) ферменту до субстрату, що критично для оптимізації умов реакції.

Інгібітори можуть знижувати активність ферментів через різні механізми:

- Конкурентне інгібування: інгібітор змагається з субстратом за активний центр ферменту, зменшуючи доступ субстрату.
- Неконкурентне інгібування: інгібітор зв'язується з іншим місцем ферменту, ніж активний центр, змінюючи його конформацію та знижуючи загальну активність.

- Безконкурентне інгібування: інгібітор зв'язується лише з комплексом фермент-субстрат, що призводить до зменшення максимальної швидкості реакції.

Знання цих механізмів дозволяє біоінженерам розробляти способи регуляції реакцій і створювати стійкі ферментні системи.

Біокаталіз та його значення в біоінженерії. Біокаталіз - використання ферментів або цілих клітин для прискорення хімічних реакцій у промислових умовах. Переваги біокаталізу:

- Висока специфічність і селективність: забезпечує отримання продуктів з високою чистотою та виходом без побічних реакцій.
- Екологічність: ферменти працюють при помірних температурах і атмосферному тиску, зменшуючи енергоспоживання та утворення шкідливих відходів.
- Стійкість та відновлюваність: використання відновлюваних ресурсів і можливість біорозкладності продуктів та реагентів.

Застосування в біоінженерії:

- Ферментна інженерія: модифікація ферментів для покращення їхніх властивостей - стабільності, каталізаторної активності, специфічності до субстрату.
- Біореакторні системи: розробка та оптимізація біореакторів для масштабного виробництва біопродуктів, таких як ферменти, антибіотики, амінокислоти.
- Метаболічна інженерія: переналаштування метаболічних шляхів мікроорганізмів для синтезу цінних речовин (біопалива, фармацевтичні препарати, біопластики).
- Біосенсори: створення сенсорних пристроїв для виявлення різних речовин на основі ферментативних реакцій, що мають високу чутливість та специфічність.

Розуміння кінетики ферментативних реакцій та принципів біокаталізу є ключовим для біоінженерії. Ці знання дозволяють розробляти ефективні та екологічно безпечні біотехнологічні процеси, що сприяють прогресу в медицині, харчовій промисловості, енергетиці та захисті довкілля.

Режим доступу до теоретичної частини : [Теорія "Кінетика ферментативних реакцій та біокаталіз"](#).

Хід виконання. Перед початком роботи переконайтеся, що Вас додано до списку груп виконавців лабораторної роботи. Відповідно

до розкладу переконайтесь в місці та даті проведення роботи. Дотримуйтесь термінів встановлених до виконання цієї роботи. Під час виконання роботи передбачається тестування на платформі.

Дотримуйтесь наступного алгоритму роботи:

1. Пілотне ферментування та варіювання умов культивування:

- Мета: Дослідити вплив різних параметрів на швидкість та обсяг виробництва біоетанолу, розуміючи принципи кінетики ферментативних реакцій.
- Дії:
 - Виконати серію ферментаційних експериментів у віртуальній лабораторії.
 - Змінювати параметри росту дріжджів:
 - Температура: дослідити оптимум для активності ферментів дріжджів.
 - Склад газової фази: регулювати співвідношення кисню та вуглекислого газу.
 - Рівень перемішування: забезпечити рівномірний розподіл поживних речовин та тепла.
 - рН середовища: підтримувати оптимальні умови для ферментативної активності.
 - Збирати дані про ріст культури та накопичення біоетанолу в режимі реального часу.

2. Аналіз та інтерпретація отриманих даних:

- Мета: Проаналізувати результати експериментів, застосовуючи принципи кінетики, та визначити оптимальні умови для максимального виробництва біоетанолу.
- Дії:
 - Порівняти результати різних експериментів, виявляючи закономірності між параметрами культивування та продуктивністю процесу.
 - Під керівництвом Dr. One виконати якісний аналіз ключових показників ферментаційного процесу.
 - Визначити, які умови культивування сприяють максимальній активності ферментів дріжджів та швидкій продукції біоетанолу.

3. Визначення оптимальних умов для промислового впровадження:

- Мета: Сформулювати рекомендації для масштабування процесу виробництва біоетанолу на промисловий рівень, враховуючи принципи біоінженерії та біокаталізу.
- Дії:
 - Обговорити з командою оптимальні параметри культивування для промислового біореактора.
 - Оцінити вплив обраних умов на економічну ефективність та екологічну стійкість процесу.
 - Підготувати звіт з рекомендаціями щодо використання кінетичних даних для оптимізації біотехнологічного процесу в масштабах виробництва.

Режим доступу до виконання роботи на платформі : [Хід роботи "Кінетика ферментативних реакцій та біокаталіз"](#).

Обговорення та висновки.

Завдання для обговорення:

1. Застосування кінетики ферментативних реакцій у біоінженерії:
 - Як рівняння Міхаеліса-Ментен допомагає оптимізувати процеси в біореакторах для промислового виробництва біопродуктів?
 - Яким чином параметри V_{\max} та K_m впливають на вибір умов культивування в біотехнологічних процесах?
 - Як розуміння кінетики ферментативних реакцій сприяє масштабуванню біотехнологічних процесів від лабораторних до промислових масштабів?
2. Роль інгібування ферментів у розробці стійких біокаталізаторів:
 - Які види інгібування ферментів можуть бути корисними для регулювання біотехнологічних процесів?
 - Як знання про механізми інгібування ферментів можуть допомогти підвищити селективність та продуктивність біокаталізу?
 - Які стратегії можна застосувати для мінімізації негативного впливу інгібіторів у промислових біопроцесах?
3. Біокаталіз та екологічна стійкість у біоінженерії:

- Які переваги біокаталізу над традиційним хімічним каталізмом з точки зору екологічної безпеки та сталого розвитку?
- Як біоінженери можуть модифікувати ферменти для роботи в екстремальних умовах (температура, рН), і чому це важливо для промислових застосувань?
- Які перспективи використання біокаталізу у виробництві відновлюваних джерел енергії, таких як біоетанол, і як це впливає на глобальну енергетику?

Завдання для висновків:

1. Аналіз отриманих кінетичних даних:
 - Які умови культивування виявилися найбільш ефективними для максимального виробництва біоетанолу, і чому?
 - Як зміна таких параметрів, як температура, рН та рівень перемішування, вплинула на активність ферментів та швидкість реакції?
 - Чи вдалося досягти оптимального балансу між швидкістю росту дріжджів та накопиченням продукту, і як це впливає на промислове застосування?
2. Практичне застосування результатів експерименту:
 - Які рекомендації можна надати для масштабування процесу виробництва біоетанолу на промисловий рівень?
 - Як знання кінетики ферментативних реакцій допомогли оптимізувати роботу біореактора в цьому експерименті?
 - Які потенційні виклики можуть виникнути при впровадженні цього процесу у промисловість, і як їх можна подолати?
3. Вплив біоінженерних підходів на розвиток біотехнологій:
 - Як інтеграція біологічних та інженерних принципів сприяє створенню більш ефективних та стійких біотехнологічних процесів?
 - Які навички та компетенції є ключовими для біоінженерів при розробці та впровадженні біокаталітичних систем?

- Як результати цього практичного заняття можуть вплинути на подальші дослідження та інновації у сфері біоінженерії?

Оцінювання та зворотний зв'язок.

Методи оцінювання:

✓ Під час виконання роботи передбачається тестування на платформі або в аудиторії, практичні запитання від викладача.

✓ Зазначте, як ці методи допомогли вам засвоїти матеріал та які аспекти були найбільш корисними.

Отриманий зворотний зв'язок:

✓ Опишіть, як зворотний зв'язок сприяв покращенню вашого розуміння теми та навичок роботи в лабораторії.

Самоаналіз:

✓ Проаналізуйте власну роботу та підхід до виконання завдань. Визначте, що було зроблено добре, а над чим варто працювати.

✓ Встановіть цілі для подальшого покращення своїх знань та навичок у цій галузі.

Рекомендації для майбутніх робіт:

✓ Поділіться своїми пропозиціями щодо покращення практичного заняття. Це можуть бути ідеї щодо обладнання, методів або додаткових ресурсів.

✓ Зазначте, як отриманий досвід може бути застосований у майбутніх дослідженнях або професійній діяльності.

Оформлення звіту про виконання практичного заняття. Звіт виконується відповідно до форми та завантажується на перевірку у навчальну платформу університету [Навчальна дисципліна «Біоінженерія»](#).

Практичне заняття №11. Інженерія білків та їх експресія.

Мета заняття. Навчитися методам інженерії білків та їх експресії в різних системах, оволодіти техніками аналізу білків і зрозуміти їх практичне застосування в біоінженерії.

Теоретичні відомості. Інженерія білків - це галузь біоінженерії, що займається модифікацією та створенням білків із новими або покращеними властивостями. Це досягається шляхом змін у послідовності амінокислот білка, що призводить до змін у його структурі та функціях. Інженерія білків має широке застосування в

медицині, промисловості, сільському господарстві та екології.

Методи інженерії білків:

1. Рациональний дизайн: Базується на знаннях тривимірної структури білка та механізмів його дії. Шляхом цілеспрямованих змін у гені, що кодує білок, вводяться мутації, які прогнозовано впливають на властивості білка.
2. Комбінаторна інженерія (спрямована еволюція): Імітує природну еволюцію в лабораторії. Ген білка піддають випадковим мутаціям або рекомбінаціям, після чого відбирають варіанти з бажаними властивостями. Цей метод не потребує детальних знань про структуру білка.

Експресія білків:

Для отримання модифікованих білків необхідно забезпечити їх експресію в клітинах-господарях. Це може бути досягнуто з використанням різних систем експресії:

- Прокаріотичні системи (наприклад, *Escherichia coli*): Переваги - швидке зростання клітин, висока врожайність білка. Недоліки — відсутність посттрансляційних модифікацій, що обмежує експресію еукаріотичних білків.
- Еукаріотичні системи (дріжджі, клітини комах, клітини ссавців): Забезпечують правильні посттрансляційні модифікації. Недоліки - складніші умови культивування, вища вартість.

Вектори для експресії:

- Містять промотор для ініціації транскрипції, сайт зв'язування рибосоми, старт-кодон, ген інтересу, стоп-кодон та термінатор транскрипції.
- Можуть включати селекційні маркери та теги для очищення білка.

Очищення та аналіз білків:

Після експресії білок необхідно очистити. Використовують методи хроматографії, електрофорезу, афінного очищення. Для аналізу якості та активності білка застосовують спектрофотометрію, мас-спектрометрію, функціональні тести.

Застосування інженерії білків:

- Медицина: Розробка терапевтичних білків, вакцин, діагностичних засобів.
- Промисловість: Створення ферментів із покращеною

стабільністю та активністю для біокаталізу.

- Сільське господарство: Розробка стійких до стресів рослин, біопестицидів.
- Екологія: Білки для біоремедіації та очищення навколишнього середовища.

Інженерія білків є потужним інструментом біоінженерії, що дозволяє створювати білки із заданими властивостями. Розуміння методів модифікації генів та експресії білків є ключовим для розвитку інноваційних біотехнологій та їх практичного застосування в різних галузях.

Режим доступу до теоретичної частини : [Теорія "Інженерія білків та їх експресія"](#).

Хід виконання. Перед початком роботи переконайтеся, що Вас додано до списку груп виконавців лабораторної роботи. Відповідно до розкладу переконайтесь в місці та даті проведення роботи. Дотримуйтесь термінів встановлених до виконання цієї роботи. Під час виконання роботи передбачається тестування на платформі.

Дотримуйтесь наступного алгоритму роботи:

1. Порівняння синтезу білків у прокариотів і еукаріотів

- Мета: Зрозуміти відмінності процесів синтезу білків між прокариотичними організмами (наприклад, *E. coli*) та еукаріотичними клітинами (клітини СНО — Chinese Hamster Ovary cells).
- Дії:
 - Ознайомитись з теоретичними основами синтезу білків у прокариотів та еукаріотів.
 - Обговорити значення цих відмінностей для біоінженерії, зокрема щодо експресії рекомбінантних білків.
 - Розглянути приклади білків, які експресуються в різних системах, та їх застосування.

2. Підготовка рекомбінантного еритропоєтину та використання мас-спектрометра

- Мета: Навчитися експресувати та аналізувати рекомбінантний еритропоєтин (ЕРО) у різних системах експресії та освоїти базові навички мас-спектрометрії.
- Дії:
 - Асистент лабораторії готує рекомбінантний ЕРО,

трансфікований у *E. coli* та клітини СНО.

- Ознайомитись з принципами роботи мас-спектрометра та його значенням у аналізі білків.
- Провести вимірювання співвідношення маси до заряду рекомбінантного ЕРО за допомогою мас-спектрометра.
- Використати навчальні матеріали або анімовані відео для кращого розуміння роботи з мас-спектрометром.

3. Вивчення процесу трансляції та формування структури білка

- Мета: Розібратися з механізмом трансляції мРНК у амінокислотну послідовність та подальшим згортанням білка.
- Дії:
 - Переглянути 3D-анімацію процесу трансляції, що демонструє перетворення триплетів кодонів у амінокислоти.
 - Пояснити, як амінокислоти з'єднуються пептидними зв'язками, утворюючи первинну структуру білка.
 - Дослідити процеси формування вторинної, третинної та четвертинної структур білка.
 - Обговорити, як структура білка впливає на його функцію та значення цього для біоінженерії.

Режим доступу до виконання роботи на платформі : [Хід роботи "Інженерія білків та їх експресія"](#).

Обговорення та висновки.

Завдання для обговорення:

1. Відмінності експресії білків у прокаріотичних та еукаріотичних системах:
 - Які головні відмінності між експресією рекомбінантних білків у *E. coli* та клітинах СНО?
 - Як ці відмінності впливають на структуру та функціональність отриманих білків?
 - У яких випадках доцільно використовувати прокаріотичні системи експресії, а коли — еукаріотичні?
2. Вплив посттрансляційних модифікацій на функцію білка:
 - Чому посттрансляційні модифікації є критичними для біологічної активності деяких білків, таких як

еритропоетин?

- Як відсутність цих модифікацій у прокаріотичних системах може вплинути на ефективність рекомбінантних білків?
- Які стратегії можна застосувати для отримання правильно модифікованих білків у лабораторних умовах?

Завдання для висновків:

1. Аналіз результатів експресії рекомбінантного еритропоетину:
 - Які відмінності були виявлені між еритропоетином, отриманим з *E. coli*, та з клітин СНО?
 - Як ці відмінності можуть вплинути на потенційне використання рекомбінантного білка в медичних застосуваннях?
 - Чому вибір системи експресії є вирішальним для успішного виробництва терапевтичних білків?
2. Розуміння процесу згортання та структури білка:
 - Як формування вторинної, третинної та четвертинної структур впливає на функціональність білка?
 - Які наслідки можуть мати порушення в згортанні білка для його біологічної активності?
 - Як знання про структуру білка можна використати для розробки білків із покращеними властивостями?
3. Впровадження отриманих знань у практику біоінженерії:
 - Які навички, здобуті під час цього практичного заняття, є найціннішими для майбутніх біоінженерних проектів?
 - Як поєднання експериментальних методів та інструментів аналізу сприяє розвитку сучасних біотехнологій?
 - Які перспективи відкриваються перед біоінженерами завдяки розумінню процесів інженерії білків та їх експресії?

Оцінювання та зворотний зв'язок.

Методи оцінювання:

- ✓ Під час виконання роботи передбачається тестування на платформі або в аудиторії, практичні запитання від викладача.

✓ Зазначте, як ці методи допомогли вам засвоїти матеріал та які аспекти були найбільш корисними.

Отриманий зворотний зв'язок:

✓ Опишіть, як зворотний зв'язок сприяв покращенню вашого розуміння теми та навичок роботи в лабораторії.

Самоаналіз:

✓ Проаналізуйте власну роботу та підхід до виконання завдань. Визначте, що було зроблено добре, а над чим варто працювати.

✓ Встановіть цілі для подальшого покращення своїх знань та навичок у цій галузі.

Рекомендації для майбутніх робіт:

✓ Поділіться своїми пропозиціями щодо покращення практичного заняття. Це можуть бути ідеї щодо обладнання, методів або додаткових ресурсів.

✓ Зазначте, як отриманий досвід може бути застосований у майбутніх дослідженнях або професійній діяльності.

Оформлення звіту про виконання практичного заняття. Звіт виконується відповідно до форми та завантажується на перевірку у навчальну платформу університету [Навчальна дисципліна «Біоінженерія»](#).

Практичне заняття №12. Ферментаційні процеси та біореактор.

Мета заняття. Ознайомитися з принципами ферментаційних процесів та роботою біореактора, навчитися планувати та аналізувати ферментаційні процеси з акцентом на їх значення та застосування в біоінженерії.

Теоретичні відомості. Ферментаційні процеси - це біохімічні реакції, у яких мікроорганізми (бактерії, дріжджі, гриби) використовуються для перетворення органічних сполук у корисні продукти: ферменти, антибіотики, амінокислоти, органічні кислоти тощо. Біореактор - це пристрій, що забезпечує оптимальні умови для проведення ферментації, контролюючи параметри середовища: температуру, рН, аерацію, перемішування тощо.

Значення для біоінженерії:

1. Масштабування біопроцесів: Біореактори дозволяють

перенести лабораторні процеси у промислові масштаби, забезпечуючи масове виробництво біопродуктів. Це критично для розробки ліків, біопалива, біоматеріалів.

2. Оптимізація та контроль процесів: Біоінженери використовують біореактори для точного контролю умов ферментації, що дозволяє підвищити вихід продукції, покращити якість та стабільність процесу.
3. Розробка нових технологій: Розуміння механізмів ферментації сприяє створенню інноваційних рішень у біотехнології, таких як синтетична біологія та метаболічна інженерія, що відкриває можливості для виробництва нових сполук.
4. Стійкий розвиток та екологія: Використання мікроорганізмів у біореакторах сприяє зменшенню екологічного навантаження, оскільки процеси проходять при помірних умовах і використовують відновлювані ресурси.

Практичне заняття з ферментаційних процесів та роботи з біореактором надає студентам можливість:

- Ознайомитися з конструкцією та принципом дії біореактора.
- Навчитися контролювати та регулювати параметри ферментації.
- Застосувати теоретичні знання на практиці, що є важливим для розвитку професійних навичок біоінженера.
- Усвідомити роль біоінженерії у вирішенні глобальних проблем, таких як виробництво біопалива та екологічно чистих матеріалів.

Це заняття є ключовим для розуміння того, як біоінженерія поєднує біологічні науки та інженерні підходи для створення ефективних та стійких біотехнологічних процесів.

Хід виконання. Перед початком роботи переконайтеся, що Вас додано до списку груп виконавців лабораторної роботи. Відповідно до розкладу переконайтесь в місці та даті проведення роботи. Дотримуйтесь термінів встановлених до виконання цієї роботи. Під час виконання роботи передбачається тестування на платформі.

Дотримуйтесь наступного алгоритму роботи:

1. Ознайомлення з теоретичними основами ферментаційних процесів та конструкцією біореактора:

- Мета: Закріпити знання про принципи ферментації, види

біореакторів та їх застосування в біоінженерії.

- Дії:
 - Розглянути основні типи ферментаційних процесів (аеробні, анаеробні) та їх значення в промисловості.
 - Ознайомитися з різновидами біореакторів (змішані, проточні, з нерухомим шаром, фотобіореактори) та їх конструктивними особливостями.
 - Обговорити параметри, що впливають на ефективність ферментації: температура, рН, аерація, перемішування, в'язкість середовища.
 - Розглянути приклади використання біореакторів у виробництві ліків, ферментів, біопалива та інших біопродуктів.

2. Моделювання ферментаційного процесу та планування роботи біореактора:

- Мета: Навчитися планувати ферментаційний процес з урахуванням необхідних параметрів для оптимальної роботи біореактора.
- Дії:
 - Вибрати модельний мікроорганізм та продукт ферментації (наприклад, виробництво етанолу дріжджами).
 - Розробити технологічну схему процесу, визначивши стадії підготовки середовища, внесення інокуляту, ферментації та вилучення продукту.
 - Визначити оптимальні параметри процесу (температура, рН, швидкість аерації, швидкість перемішування) на основі літературних даних та властивостей мікроорганізму.
 - Розробити план контролю параметрів ферментації та способи їх регулювання під час процесу.

3. Аналіз кінетики ферментаційного процесу та інтерпретація даних:

- Мета: Освоїти методи аналізу кінетичних даних для оцінки ефективності процесу та прийняття рішень щодо його оптимізації.
- Дії:
 - Розглянути моделі кінетики мікробного росту та

продукції (рівняння Моно, моделі з врахуванням інгібіції продуктом).

- На основі заданих або змодельованих даних побудувати графіки росту біомаси, споживання субстрату та накопичення продукту.
- Проаналізувати отримані криві, визначити максимальну швидкість росту, константи насичення та інші ключові параметри.
- Обговорити фактори, які можуть обмежувати процес, та запропонувати шляхи їх подолання.

Це заняття не лише поглиблює розуміння студентами ферментаційних процесів та роботи біореакторів, але й демонструє, як біоінженери можуть впливати на вирішення глобальних проблем, таких як енергетична криза, зміна клімату та забезпечення населення якісними продуктами харчування та медицини. Це підкреслює важливість їхньої майбутньої ролі у суспільстві та мотивацію до подальшого професійного розвитку.

Обговорення та висновки.

Завдання для обговорення:

1. Роль біореакторів у біоінженерії та масштабування процесів:
 - Які основні типи біореакторів використовуються в біоінженерії, і які їхні переваги та недоліки?
 - Як параметри біореактора (температура, рН, аерація, перемішування) впливають на ефективність ферментаційних процесів?
 - Які виклики виникають при масштабуванні ферментаційних процесів з лабораторного рівня до промислового, і як біоінженери можуть їх подолати?
2. Оптимізація ферментаційних процесів та аналіз кінетики:
 - Як моделі кінетики мікробного росту допомагають у прогнозуванні та оптимізації ферментаційних процесів?
 - Які методи можна застосувати для підвищення виходу та продуктивності бажаних продуктів у ферментаційних процесах?
 - Як вибір мікроорганізму впливає на дизайн та експлуатацію біореактора?
3. Екологічні аспекти та стійкий розвиток у контексті

ферментаційних процесів:

- Які переваги ферментаційних процесів у порівнянні з традиційними хімічними процесами з точки зору екологічної безпеки?
- Як біоінженерія може сприяти стійкому розвитку через використання ферментаційних технологій?
- Які сучасні виклики існують у використанні ферментації для виробництва біопалива, і як їх можна подолати?

Завдання для висновків:

1. Аналіз отриманих результатів та практичних навичок:
 - Які труднощі виникли при моделюванні ферментаційного процесу та плануванні роботи біореактора, і як вони були подолані?
 - Як практичне заняття поглибило ваше розуміння ролі біоінженерії в промисловій біотехнології?
 - Які навички та знання, отримані під час заняття, будуть корисними для вашої майбутньої кар'єри в біоінженерії?
2. Застосування теоретичних знань у практиці:
 - Як теоретичні знання про кінетику ферментаційних процесів допомогли в аналізі та інтерпретації даних?
 - Які висновки ви зробили щодо оптимізації ферментаційних процесів на основі проведених аналізів?
 - Як інтеграція теоретичних та практичних знань сприяє розвитку ефективних біоінженерних рішень?
3. Перспективи та вплив на майбутнє біоінженерії:
 - Як досвід, отриманий під час цього заняття, може бути застосований для розробки інноваційних біоінженерних проєктів?
 - Які можливі напрямки подальших досліджень та розвитку у сфері ферментаційних технологій ви вбачаєте?
 - Як навички та знання, здобуті на практичному занятті, можуть сприяти вирішенню глобальних проблем у галузі здоров'я, енергетики та навколишнього середовища?

Оцінювання та зворотний зв'язок.

Методи оцінювання:

✓ Під час виконання роботи передбачається тестування на платформі або в аудиторії, практичні запитання від викладача.

✓ Зазначте, як ці методи допомогли вам засвоїти матеріал та які аспекти були найбільш корисними.

Отриманий зворотний зв'язок:

✓ Опишіть, як зворотний зв'язок сприяв покращенню вашого розуміння теми та навичок роботи в лабораторії.

Самоаналіз:

✓ Проаналізуйте власну роботу та підхід до виконання завдань. Визначте, що було зроблено добре, а над чим варто працювати.

✓ Встановіть цілі для подальшого покращення своїх знань та навичок у цій галузі.

Рекомендації для майбутніх робіт:

✓ Поділіться своїми пропозиціями щодо покращення практичного заняття. Це можуть бути ідеї щодо обладнання, методів або додаткових ресурсів.

✓ Зазначте, як отриманий досвід може бути застосований у майбутніх дослідженнях або професійній діяльності.

Оформлення звіту про виконання практичного заняття. Звіт виконується відповідно до форми та завантажується на перевірку у навчальну платформу університету [Навчальна дисципліна «Біоінженерія»](#).

Рекомендована література

1. Кляченко О. Л., Мельничук М. Д., Коломієць Ю. В. Біоінженерія. Вінниця : ТОВ "Нілан-ЛТД", 2015. 458 с.
2. Молоцький М. Я., Васильківський С. П., Князюк В. І., Власенко В. А. Селекція і насінництво сільськогосподарських рослин : підручник. Київ : Вища освіта, 2006. 463 с.
3. Герасименко В. Г., Герасименко М. О., Цвіліховський М. І. Біотехнологія : підруч. для підготов. спец. в аграр. вищ. навч. закл. Київ : Фірма "Інкос", 2006. 646 с.
4. Сатарова Т. М., Абраїмова О. Є., Вінніков А. І., Черенков А. В. Біотехнологія рослин : навч. посіб. Дніпропетровськ : ДУ Інститут зерн. культур НААН, 2016. 136 с.
5. Кунах В. А. Біотехнологія лікарських рослин. Генетичні та фізіолого-біохімічні основи : монографія / Ін-т молекул. біології і генетики НАН України. Київ : Логос, 2005. 724 с.
6. Воробйова Л. І., Тагліна О. В. Генетичні основи селекції рослин і тварин. Черкаси : Ранок, 2007. 224 с.
7. Bioengineering / ред. Gretchen Kenney. New York : Syrawood Publishing House, 2016. 268 p.
8. Hammelehle R., Schmid R. D., Schmidt-Dannert C. Biotechnology: An Illustrated Primer. Somerset : Wiley-VCH, 2016. 582 p.
9. Dale J., von Schatz M., Plant N. From Genes to Genomes: Concepts and Applications of DNA Technology. 3rd ed. Chichester : Wiley-Blackwell, 2012. 402 p.
10. Kang M. Quantitative Genetics, Genomics and Plant Breeding. Wallingford : CABI, 2020. 416 p.
11. Srivastava D. K., Thakur A. K., Kumar P. Agricultural Biotechnology: Latest Research and Trends. Cham : Springer, 2022. 741 p.
12. Harvey L., Berk A., Kaiser C. Molecular Cell Biology. 9th ed. New York : Macmillan Learning, 2021. 3700 p.
13. Yadav A. N., Singh J., Singh C., Yadav N. Current Trends in Microbial Biotechnology for Sustainable Agriculture. Cham : Springer, 2020. 572 p.
14. Chandran S., George K. W. DNA Cloning and Assembly: Methods and Protocols. New York : Springer US ; Humana, 2020. 334 p.